

# **Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)**

International application number: PCT/JP05/002842

International filing date: 16 February 2005 (16.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-042337  
Filing date: 19 February 2004 (19.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 07 April 2005 (07.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

16.02.2005

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日      2004年  2月19日  
Date of Application:

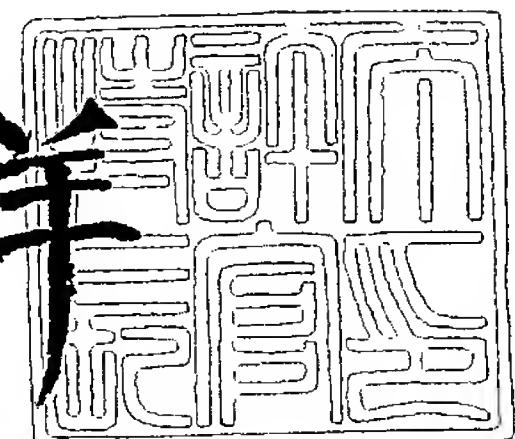
出願番号      特願2004-042337  
Application Number:  
[ST. 10/C]:      [JP2004-042337]

出願人      山中伸弥  
Applicant(s):      住友製薬株式会社

2005年  3月24日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小川洋



【書類名】 特許願  
【整理番号】 133231  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 C12Q 01/02  
C12N 05/06

【発明者】  
【住所又は居所】 大阪府大阪市天王寺区堂ヶ芝 2-9-7-1401  
【氏名】 山中 伸弥

【特許出願人】  
【識別番号】 501219312  
【氏名又は名称】 山中 伸弥

【特許出願人】  
【識別番号】 000183370  
【氏名又は名称】 住友製薬株式会社

【代理人】  
【識別番号】 100121588  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 五十部 穂  
【電話番号】 06-6466-5214

【手数料の表示】  
【予納台帳番号】 056546  
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】  
【物件名】 特許請求の範囲 1  
【物件名】 明細書 1  
【物件名】 図面 1  
【物件名】 要約書 1  
【包括委任状番号】 0205876

**【書類名】特許請求の範囲****【請求項1】**

以下の(a)および(b)の工程を含む、体細胞の核初期化物質のスクリーニング方法：

(a) ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、マーカー遺伝子発現細胞の出現の有無を調べ、該細胞を出現させた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程。

**【請求項2】**

ECAT遺伝子が、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、請求項1記載のスクリーニング方法。

**【請求項3】**

マーカー遺伝子が、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子である、請求項1または2記載のスクリーニング方法。

**【請求項4】**

体細胞が、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞である、請求項1～3いずれか記載のスクリーニング方法。

**【請求項5】**

体細胞が、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有する体細胞である、請求項4記載のスクリーニング方法。

**【請求項6】**

ECAT遺伝子がECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、請求項4または5記載のスクリーニング方法。

**【請求項7】**

以下の(a)および(b)の工程を含む、請求項1記載のスクリーニング方法：

(a) ECAT2遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程。

**【請求項8】**

以下の(a)および(b)の工程を含む、請求項1記載のスクリーニング方法：

(a) ECAT3遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程。

**【請求項9】**

以下の(a)および(b)の工程を含む、請求項1記載のスクリーニング方法：

(a) ECAT5遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程。

**【請求項10】**

以下の(a)および(b)の工程を含む、請求項1記載のスクリーニング方法：

(a) ECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子に、それぞれ薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程。

**【請求項11】**

E C A T 2 遺伝子と E C A T 3 遺伝子が、それぞれ異なる薬剤耐性遺伝子でノックインされている、請求項10記載のスクリーニング方法。

**【請求項12】**

体細胞が、E C A T 遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有する体細胞である、請求項7～11いずれか記載のスクリーニング方法。

**【請求項13】**

以下の(a)および(b)の工程を含む、請求項1記載のスクリーニング方法：

(a) E C A T 4 遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程。

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程。

**【請求項14】**

体細胞が、E C A T 遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子をヘテロで含有する体細胞である、請求項13記載のスクリーニング方法。

**【請求項15】**

請求項1～14いずれか記載のスクリーニング方法を用いて選択される核初期化物質。

**【請求項16】**

E S 細胞由来の遺伝子またはタンパク質である、請求項15記載の核初期化物質。

**【請求項17】**

E C A T 遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を含有するノックインマウスの、請求項1～14いずれか記載のスクリーニング方法において用いる体細胞の供給源としての使用。

**【請求項18】**

ノックインマウスが、E C A T 遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有するノックインマウスである、請求項17記載の使用。

**【請求項19】**

E C A T 遺伝子がE C A T 2 遺伝子、E C A T 3 遺伝子、E C A T 4 遺伝子およびE C A T 5 遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、請求項17または18記載の使用。

**【請求項20】**

マーカー遺伝子が、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子である、請求項17～19いずれか記載の使用。

**【請求項21】**

E C A T 遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞。

**【請求項22】**

E C A T 遺伝子がE C A T 2 遺伝子、E C A T 3 遺伝子、E C A T 4 遺伝子およびE C A T 5 遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、請求項21記載の体細胞。

**【請求項23】**

マーカー遺伝子が、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子である、請求項21または22記載の体細胞。

**【請求項24】**

E C A T 遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を含有する、請求項21～23いずれか記載の体細胞。

**【請求項25】**

E C A T 遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有する、請求項24記載の体細胞。

**【請求項26】**

以下の（a）および（b）の工程を含む、ES様細胞の選択方法：

- (a) ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記（a）の工程の後、マーカー遺伝子発現細胞をES様細胞として選択する工程

。

**【請求項27】**

ECAT遺伝子が、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、請求項26記載の選択方法。

**【請求項28】**

マーカー遺伝子が、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子である、請求項26または27記載の選択方法。

**【請求項29】**

以下の（a）および（b）の工程を含む、請求項26記載の選択方法：

- (a) ECAT2遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記（a）の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

。

**【請求項30】**

以下の（a）および（b）の工程を含む、請求項26記載の選択方法：

- (a) ECAT3遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記（a）の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

。

**【請求項31】**

以下の（a）および（b）の工程を含む、請求項26記載の選択方法：

- (a) ECAT5遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記（a）の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

。

**【請求項32】**

以下の（a）および（b）の工程を含む、請求項26記載の選択方法：

- (a) ECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記（a）の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

。

**【請求項33】**

ECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に、それぞれ異なる薬剤耐性遺伝子が存在する、請求項32記載の選択方法。

**【請求項34】**

以下の（a）および（b）の工程を含む、請求項26記載の選択方法：

- (a) ECAT4遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記（a）の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

。

**【請求項35】**

請求項21～25いずれか記載の体細胞の、請求項1～14いずれか記載のスクリーニング

ング方法または請求項26～34いずれか記載の選択方法における使用。

【請求項36】

請求項1～14いずれか記載のスクリーニング方法または請求項26～34いずれか記載の選択方法において選択されたマーカー遺伝子発現細胞または生存細胞。

【書類名】明細書

【発明の名称】体細胞核初期化物質のスクリーニング方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、体細胞核初期化物質の新規なスクリーニング方法に関する。より詳細には、本発明は、ECAT遺伝子を利用し、ES様細胞化をマーカー遺伝子の発現でモニターすることにより、体細胞からES様細胞への変換を誘導する物質（体細胞の核初期化（Nuclear reprogramming）を誘導する物質）を効率的に同定する方法に関する。また本発明は、ECAT遺伝子を利用し、ES様細胞化をマーカー遺伝子の発現でモニターすることにより、ES様細胞を効率的に選択する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

胚性幹細胞（ES細胞）は哺乳動物胚盤胞の内部細胞塊より樹立した幹細胞であり、すべての細胞へと分化する能力（分化多能性）を維持したまま、無限に増殖させることができる。この特性から、ES細胞から大量合成した心筋細胞や神経細胞を心筋梗塞やパーキンソン病患者に移植して治療する幹細胞療法が期待されている。しかしES細胞にはヒト受精卵を利用し、犠牲にするという致命的とも言える倫理的問題が存在する。一方、生体の各組織には神経幹細胞、造血幹細胞、間葉系幹細胞などの組織幹細胞が存在する。組織幹細胞は受精卵を使わないので倫理的問題が無く、また患者自身の細胞を使えるので拒絶反応も回避することができる。しかし組織幹細胞は単離が難しく、増殖能や分化能もES細胞に比べると比べものにならないほど限られている。組織幹細胞や分化細胞等の体細胞を何らかの手段により高い増殖能と分化多能性を有するES細胞に類似した細胞に変換することができたら、このES様細胞は臨床応用にとって理想的な幹細胞となる。具体的には、例えば患者の体細胞を採取し、これを核初期化因子（核初期化を誘導する因子）で刺激してES様細胞に変換し、これを幹細胞として臨床応用することが期待される。しかしながら、そのような核初期化因子の探索を効率良く行える系は存在していない。

【0003】

ECAT遺伝子（ES cell associated transcript gene）は、ES細胞等の分化全能性細胞で特異的に発現する遺伝子の総称である。これまでにECAT遺伝子として報告されているものとしては、転写因子Oct3（Oct4、POU5f1とも呼ばれる。以下Oct3/4という）遺伝子が知られている。また、同様な遺伝子がヒトでも報告されているが（hOct3/4遺伝子；非特許文献1を参照）、hOct-3/4遺伝子についてはES細胞特異的な発現を証明したという報告はない。

【0004】

近年我々のグループは、ESTデータベースを利用したコンピューター解析およびノザンプロット解析に基づき、ES細胞で特異的に発現する9個の遺伝子を見出し、これをECAT1遺伝子、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子、ECAT5遺伝子、ECAT6遺伝子、ECA T7遺伝子、ECAT8遺伝子、およびECAT9遺伝子と命名した（特許文献1を参照）。このうちECAT4はNanogとも呼ばれる因子であり、ES細胞が有する全能性（分化多能性）の維持に必須の因子であることが明らかとなった（非特許文献2を参照）。またECAT5はERasとも呼ばれる因子であり、ES細胞の増殖を促進する因子であることが明らかになっている（非特許文献3を参照）。

【0005】

またECAT3はF-box含有タンパクの1種、Fbx15であり、F-boxを有することからユビキチンリガーゼであると考えられている。ECAT3遺伝子の発現調節領域を解析した結果、ES細胞特異的転写因子であるOct4とSox2の2つにより協調的に発現調節を受けていることが明らかとなった（非特許文献4を参照）。

ECAT3の機能を調べるために、ECAT3遺伝子のコーディング領域に $\beta$ geo（ $\beta$ ガラクトシダーゼとネオマイシン耐性遺伝子の融合遺伝子）をノックインして作製したノックインマウスを解析した結果、当該マウスには明らかな異常が認めらず、またホモ変異ES細胞にも

増殖や分化能において明らかな異常は認められなかった。このことからECAT3遺伝子は、ES細胞の維持や増殖にとって必須の因子ではないと考えられている（非特許文献4を参照）。

### 【0006】

【特許文献1】WO 02/097090号公報

【非特許文献1】Takeda et al., Nucleic Acids Research, 20:4613-4620(1992)

【非特許文献2】Mitsui, K., et al., Cell, 113: 631-642(2003)

【非特許文献3】Takahashi, K., et al., Nature, 423: 541-545(2003)

【非特許文献4】Tokuzawa, Y., et al., Molecular and Cellular Biology, 23(8): 2699-2708(2003)

### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

### 【0007】

本発明の目的は、ECAT遺伝子を利用し、ES類似細胞を効率良く選択するシステムと、同システムを利用した体細胞（組織幹細胞、分化細胞）の核初期化物質のスクリーニング法を提供することにある。

#### 【課題を解決するための手段】

### 【0008】

前述のように、体細胞を何らかの手段により高い増殖能と分化多能性を有するES細胞に類似した細胞に変換することができたなら、このES様細胞は臨床応用にとって理想的な幹細胞となる。本発明者らはこのようなES様細胞への変換を誘導する物質（体細胞の核初期化物質）を効率的にスクリーニングすることの可能な方法につき鋭意検討した。

### 【0009】

本発明者らはまず、ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた体細胞を作製した。具体的には、ECAT3遺伝子にマーカー遺伝子である $\beta$ geo遺伝子をノックインしたノックインマウスから体細胞（リンパ球）を調製した。この体細胞をES細胞の培養条件で培養し、G418で選択したところ、全て死滅し、薬剤耐性コロニーは一つも得られなかった。一方、前記体細胞を正常ES細胞と融合し、ES細胞の培養条件で培養し、G418で選択したところ、生存細胞が出現した。この生存細胞を解析した結果、ECAT4やOct3/4を発現し、ES細胞としての性質を有するES様細胞であることが分かった。以上の実験結果より、体細胞とES細胞との融合により体細胞の核が初期化（リプロゲラミング）されたためにES様細胞が出現し、そしてECAT3遺伝子に置き換えられた $\beta$ geoが発現して薬剤耐性となったことが明らかとなった。

### 【0010】

以上のようにECAT3遺伝子に薬剤耐性遺伝子をノックインした体細胞は、ES様細胞に変換された時に薬剤耐性となる。すなわちES様細胞への変換を薬剤耐性等のマーカー遺伝子の発現で容易にモニターすることができる。この性質を利用すれば、体細胞からES様細胞への変換を誘導する核初期化因子を、薬剤耐性等のマーカー遺伝子の発現を指標として効率的にスクリーニングすることができる。また、前記マーカー遺伝子の発現を指標として、ES様細胞を効率的に選択することができる。

本発明者らはさらに、ECAT3のみならず、ECAT2やECAT5等の他のECATに関しても、前記スクリーニングやES様細胞の選択に利用できることを見出した。特にES細胞の維持や増殖において必須ではないECAT2およびECAT3は、前記スクリーニングやES様細胞の選択において非常に有効に利用することができる。

本発明はこのような知見に基づき完成するに至ったものである。

### 【0011】

すなわち本発明は、下記に掲げるものである：

(1) 以下の(a)および(b)の工程を含む、体細胞の核初期化物質のスクリーニング方法：

(a) ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存

在させた遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、マーカー遺伝子発現細胞の出現の有無を調べ、該細胞を出現させた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、

(2) ECAT遺伝子が、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、前記(1)記載のスクリーニング方法、

(3) マーカー遺伝子が、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子である、前記(1)または(2)記載のスクリーニング方法、

(4) 体細胞が、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞である、前記(1)～(3)いずれか記載のスクリーニング方法、

(5) 体細胞が、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有する体細胞である、前記(4)記載のスクリーニング方法、

(6) ECAT遺伝子がECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、前記(4)または(5)記載のスクリーニング方法、

#### 【0012】

(7) 以下の(a)および(b)の工程を含む、前記(1)記載のスクリーニング方法

：

(a) ECAT2遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、

(8) 以下の(a)および(b)の工程を含む、前記(1)記載のスクリーニング方法

：

(a) ECAT3遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、

(9) 以下の(a)および(b)の工程を含む、前記(1)記載のスクリーニング方法

：

(a) ECAT5遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、

(10) 以下の(a)および(b)の工程を含む、前記(1)記載のスクリーニング方法

：

(a) ECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子に、それぞれ薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、

(11) ECAT2遺伝子とECAT3遺伝子が、それぞれ異なる薬剤耐性遺伝子でノックインされている、前記(10)記載のスクリーニング方法、

(12) 体細胞が、ECAT遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有する体細胞である、前記(7)～(11)いずれか記載のスクリーニング方法、

(13) 以下の(a)および(b)の工程を含む、前記(1)記載のスクリーニング方法

：

(a) ECAT4遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、

(14) 体細胞が、ECAT遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子をヘテロで含有する体細胞である、前記(13)記載のスクリーニング方法、

#### 【0013】

(15) 前記(1)～(14)いずれか記載のスクリーニング方法を用いて選択される核初期化物質、

(16) ES細胞由来の遺伝子またはタンパク質である、前記(15)記載の核初期化物質、

#### 【0014】

(17) ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を含有するノックインマウスの、前記(1)～(14)いずれか記載のスクリーニング方法において用いる体細胞の供給源としての使用、

(18) ノックインマウスが、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有するノックインマウスである、前記(17)記載の使用、

(19) ECAT遺伝子がECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、前記(17)または(18)記載の使用、

(20) マーカー遺伝子が、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子である、前記(17)～(19)いずれか記載の使用、

#### 【0015】

(21) ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞、

(22) ECAT遺伝子がECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、前記(21)記載の体細胞、

(23) マーカー遺伝子が、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子である、前記(21)または(22)記載の体細胞、

(24) ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を含有する、前記(21)～(23)いずれか記載の体細胞、

(25) ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有する、前記(24)記載の体細胞、

#### 【0016】

(26) 以下の(a)および(b)の工程を含む、ES様細胞の選択方法：

(a) ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、マーカー遺伝子発現細胞をES様細胞として選択する工程、

(27) ECAT遺伝子が、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、前記(26)記載の選択方法、

(28) マーカー遺伝子が、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子である、前記(26)または(27)記載の選択方法、

(29) 以下の(a)および(b)の工程を含む、前記(26)記載の選択方法：

(a) ECAT2遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

、 (30) 以下の (a) および (b) の工程を含む、前記 (26) 記載の選択方法：

(a) ECAT3 遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、

(b) 前記 (a) の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

、 (31) 以下の (a) および (b) の工程を含む、前記 (26) 記載の選択方法：

(a) ECAT5 遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、

(b) 前記 (a) の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

、 (32) 以下の (a) および (b) の工程を含む、前記 (26) 記載の選択方法：

(a) ECAT2 遺伝子およびECAT3 遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、

(b) 前記 (a) の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

、 (33) ECAT2 遺伝子およびECAT3 遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に、それぞれ異なる薬剤耐性遺伝子が存在する、前記 (32) 記載の選択方法、

(34) 以下の (a) および (b) の工程を含む、前記 (26) 記載の選択方法：

(a) ECAT4 遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、

(b) 前記 (a) の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程

、 (35) 体細胞が、ECAT 遺伝子発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を挿入したベクターを含有する体細胞である、前記 (26) ~ (34) いずれか記載の選択方法、

(36) ECAT 遺伝子がECAT2 遺伝子、ECAT3 遺伝子、ECAT4 遺伝子およびECAT5 遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子である、前記 (35) 記載の選択方法、

### 【0017】

(37) 前記 (21) ~ (25) いずれか記載の体細胞の、前記 (1) ~ (14) いずれか記載のスクリーニング方法または前記 (26) ~ (36) いずれか記載の選択方法における使用、ならびに

(38) 前記 (1) ~ (14) いずれか記載のスクリーニング方法または前記 (26) ~ (36) いずれか記載の選択方法において選択されたマーカー遺伝子発現細胞または生存細胞、に関する。

### 【発明の効果】

### 【0018】

本発明の体細胞核初期化物質のスクリーニング方法は、ES様細胞を効率良く選択できる方法であり、また体細胞の核初期化物質を効率的に同定できる方法である。核初期化物質は、幹細胞療法を現実化するために極めて重要な物質であり、本発明のスクリーニング方法により、そのような核初期化物質の早期発見が可能となる。

### 【発明を実施するための最良の形態】

### 【0019】

以下、本明細書において、アミノ酸、(ポリ)ペプチド、(ポリ)ヌクレオチドなどの略号による表示は、IUPAC-IUBの規定 [IUPAC-IUB Communication on Biological Nomenclature, Eur. J. Biochem., 138: 9 (1984)]、「塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン」(日本国特許庁編)、および当該分野における慣用記号に従う。

## 【0020】

本明細書において「ECAT遺伝子（ES cell associated transcript gene）」とは、ES細胞等の分化全能性細胞で特異的に発現する遺伝子の総称である。具体的には、ECAT1遺伝子、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子、ECAT5遺伝子、ECAT6遺伝子、ECAT7遺伝子、ECAT8遺伝子、ECAT9遺伝子、Oct3/4遺伝子が挙げられる（WO 02/097090号公報）。本明細書において「ECAT遺伝子」という用語を用いる場合、技術内容に応じて、ECATのcDNA（mRNA）のみならず、ECATのゲノムDNAを指す場合もある。

これらECAT cDNAのマウス型・ヒト型の塩基配列およびアミノ酸配列についてはWO 02/097090号公報に記載されている。本明細書の配列表においては、以下の配列番号に示される。

## 【0021】

【表1】

ECAT遺伝子	マウス型塩基配列	マウス型アミノ酸配列	ヒト型塩基配列	ヒト型アミノ酸配列
ECAT1	配列番号:1	配列番号:2	配列番号:3	配列番号:4
ECAT2	配列番号:5	配列番号:6	配列番号:7	配列番号:8
ECAT3	配列番号:9	配列番号:10	配列番号:11	配列番号:12
ECAT4	配列番号:13	配列番号:14	配列番号:15	配列番号:16
ECAT5	配列番号:17	配列番号:18	配列番号:19	配列番号:20
ECAT6	配列番号:21	配列番号:22		
ECAT7	配列番号:23	配列番号:24	配列番号:25	配列番号:26
ECAT8	配列番号:27	配列番号:28	配列番号:29	配列番号:30
ECAT9	配列番号:31	配列番号:32	配列番号:33	配列番号:34
Oct3/4	配列番号:35	配列番号:36	配列番号:37	配列番号:38

## 【0022】

「ECAT遺伝子」（ECAT1遺伝子、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子、ECAT5遺伝子、ECAT6遺伝子、ECAT7遺伝子、ECAT8遺伝子、ECAT9遺伝子およびOct3/4遺伝子）の範疇には、前記配列番号に示した塩基配列を含有する遺伝子のみならず、ES細胞に特異的に発現するという特徴を有する限り、これらの塩基配列に類似の塩基配列を含有する遺伝子も含まれる。

## 【0023】

ここで「類似の塩基配列を含有する遺伝子」とは、前記配列番号に示される塩基配列中、1若しくは複数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列を含有する遺伝子や、前記配列番号で示される塩基配列と高い相同意を有する塩基配列を含有する遺伝子が挙げられる。

ここで「高い相同意を有する塩基配列を含有する遺伝子」とは、各ECAT遺伝子とストリングエントな条件でハイブリダイズする遺伝子を意味し、具体的には前記配列番号で示された塩基配列と70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上の相同意を有する塩基配列を含有する遺伝子が挙げられる。ここでストリングエントな条件とは、ハイブリダイズ反応や洗浄の際の温度、塩濃度等を適宜変化させることにより調節することができ、所望の相同意に応じて設定されるが、例えば塩濃度：6×SSC、温度：65°Cの条件が挙げられる。

## 【0024】

また「ECAT」（ECAT1、ECAT2、ECAT3、ECAT4、ECAT5、ECAT6、ECAT7、ECAT8、ECAT9およびOct3/4）の範疇には、前記配列番号に示したアミノ酸配列を含有するタンパク質のみならず、ES細胞に特異的に発現するという特徴を有する限り、これらのアミノ酸配列に類似のアミノ酸配列を含有するタンパク質も含まれる。

ここで「類似のアミノ酸配列を含有するタンパク質」とは、前記類似の塩基配列を含有する遺伝子によりコードされるタンパク質を指す。

### 【0025】

本発明のスクリーニング方法は、ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた体細胞をスクリーニング用細胞として使用し、当該細胞に被験物質を接触させ、体細胞がES様細胞に変換されたことをマーカー遺伝子発現細胞の出現の有無でモニターすることにより、体細胞の核初期化物質（ES様細胞への変換物質）を効率的に同定する方法である。以下、本方法について具体的に説明する。

### 【0026】

#### (1) 本発明のスクリーニング方法

本発明は、以下の(a)および(b)の工程：

- (a) ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、
- (b) 前記(a)の工程の後、マーカー遺伝子発現細胞の出現の有無を調べ、該細胞を出現させた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、  
を含む、体細胞の核初期化物質のスクリーニング方法を提供する。

### 【0027】

前記で「ECAT遺伝子」とは、具体的には、ECAT1遺伝子、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子、ECAT5遺伝子、ECAT6遺伝子、ECAT7遺伝子、ECAT8遺伝子、ECAT9遺伝子およびOct3/4遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子が挙げられる。ここで「1または2以上」とは、具体的には1または2~3個のECAT遺伝子の組み合わせが挙げられ、好ましくは1個のECAT遺伝子、または2個のECAT遺伝子の組み合わせが挙げられる。

前記「ECAT遺伝子」として、好ましくはECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1又は2以上の遺伝子が挙げられ、さらに好ましくはECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1又は2以上の遺伝子が挙げられる。最も好ましくはECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、またはこれらECAT2遺伝子とECAT3遺伝子の組み合わせが挙げられる。

前記ECAT遺伝子は、マウス、ラット、ヒト、サル等如何なる種由来のECAT遺伝子であっても良いが、好ましくはマウス由来のECAT遺伝子が挙げられる。

### 【0028】

前記で「マーカー遺伝子」とは、当該マーカー遺伝子を細胞に導入することにより、細胞の選別や選択を可能とするような遺伝子全般を指す。具体的には薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子が挙げられる。

### 【0029】

薬剤耐性遺伝子としては、具体的にはネオマイシン耐性遺伝子(neo)、テトラサイクリン耐性遺伝子(tet)、カナマイシン耐性遺伝子、ゼオシン耐性遺伝子(zeo)、ハイグロマイシン耐性遺伝子(hygro)等が挙げられる。各薬剤を含有する培地（選択培地という）で細胞を培養することにより、薬剤耐性遺伝子が導入・発現した細胞のみが生き残る。従って、選択培地で細胞を培養することにより、薬剤耐性遺伝子を含有する細胞を容易に選択することができる。

### 【0030】

蛍光タンパク質遺伝子としては、具体的にはGFP（緑色蛍光タンパク質）遺伝子、YFP（黄色蛍光タンパク質）遺伝子、RFP（赤色蛍光タンパク質）遺伝子、エクオリン遺伝子等が挙げられる。これら蛍光タンパク質遺伝子が発現した細胞は、蛍光顕微鏡で検出することができる。また蛍光強度の違いを利用することによりセルソーター等で分離・選択することができる。また蛍光強度の違いを利用してセルソーター等で分離・選択することができる。また蛍光強度の違いを利用してセルソーター等で分離・選択することができる。また蛍光強度の違いを利用してセルソーター等で分離・選択することができる。さらに、軟寒天培地などの上でコロニーを形成させ、蛍光顕微鏡下などでコロニーを選択することもできる。

**【0031】**

発光酵素遺伝子としては、具体的にはルシフェラーゼ遺伝子等が挙げられる。これら発光酵素遺伝子を発現した細胞は、発光基質を加えて発光光度計で発光量を測定することにより検出することができる。また細胞を限界希釈して1ウエルあたり1細胞以下とした後に培養・増殖させ、各ウエルから一部の細胞を採取し、発光基質を加えて発光光度計で発光の如何を測定することにより当該細胞を選択することができる。

**【0032】**

発色酵素遺伝子としては、具体的には $\beta$ ガラクトシダーゼ遺伝子、 $\beta$ グルクロニダーゼ遺伝子、アルカリフォスファターゼ遺伝子、又は分泌型アルカリフォスファターゼであるSEAP遺伝子等が挙げられる。これら発色酵素遺伝子が発現した細胞は、発色基質を加えて発色の有無を観察することにより検出することができる。また細胞を限界希釈して1ウエルあたり1細胞以下とした後に培養・増殖させ、各ウエルから一部の細胞を採取し、発色基質を加えて発色の如何を観察することにより当該細胞を選択することができる。

**【0033】**

これらマーカー遺伝子の組み合わせに係る遺伝子としては、具体的にはネオマイシン耐性遺伝子(neo)と $\beta$ ガラクトシダーゼ遺伝子( $\beta$ -gal)との融合遺伝子である $\beta$ geo遺伝子が挙げられる。

**【0034】**

以上のようなマーカー遺伝子はいずれも当業者に周知であり、このようなマーカー遺伝子を含有するベクターはインビトロジェン社、アマシャムバイオサイエンス社、プロメガ社、MBL(医学生物学研究所)等から市販されている。

**【0035】**

前記マーカー遺伝子のうち、細胞の選択が容易であるという観点から、特に好ましいのは薬剤耐性遺伝子、または当該薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子である。

**【0036】**

前記において「体細胞」とは、ES細胞等の分化全能性細胞を除く全ての細胞を意味し、具体的には、(1)神経幹細胞、造血幹細胞、間葉系幹細胞等の組織幹細胞(体性幹細胞)、(2)組織前駆細胞、または(3)リンパ球、上皮細胞、筋肉細胞、線維芽細胞等の分化した細胞が挙げられる。

**【0037】**

本発明のスクリーニング方法においては、ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞を、スクリーニング用細胞として用いる。

ここで「発現調節領域」とは、遺伝子の発現(転写)を調節する領域のことであり、「プロモーター領域」、若しくは「プロモーター及びエンハンサー領域」を含む領域を意味する。

ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させる方法は、いろいろ知られており、当業者に周知の如何なる方法を用いてマーカー遺伝子を存在させても良い。大別すると、(1-1)個体(マウス)を利用してマーカー遺伝子を存在させる場合と、(1-2)個体を利用せずに細胞レベルでマーカー遺伝子を存在させる場合がある。以下に詳述する。

**【0038】**

(1-1)個体(マウス)を利用してマーカー遺伝子を存在させる方法

個体(マウス)を利用してマーカー遺伝子を存在させる場合は、ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受けるゲノム上の位置にマーカー遺伝子を存在させる。この場合、ECAT遺伝子自身は、発現可能な形で存在していても良く、またECAT遺伝子が破壊された形で存在していても良い。

遺伝子の発現調節領域は、通常エクソン1より上流域に存在する。従って、ECAT遺伝子の発現調節領域によりマーカー遺伝子が発現調節を受けるためには、当該マーカー遺伝子は、ECAT遺伝子のエクソン1より下流域に存在させることが望ましい。この場合、エクソ

ン1より下流であれば、どのような位置に存在していても良い。

#### 【0039】

ECAT遺伝子を破壊する場合、最も良く使われる手法としては、マーカー遺伝子を含有し、かつECAT遺伝子の任意の位置で相同組換えを起こすベクター（以下ターゲッティングベクターと称する）を用いて、相同組換えにより当該ECAT遺伝子を標的破壊し、代わりにマーカー遺伝子をこの位置に存在させる方法が挙げられる。このようにECAT遺伝子を破壊し、その位置にマーカー遺伝子を存在させることを、「ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインする」と言う。

このようなマーカー遺伝子をノックインする方法は種々知られているが、中でもプロモータートラップ法が好適に用いられる。当該プロモータートラップ法は、プロモーターを持たないターゲッティングベクターを相同組換えによりゲノム中に挿入し、相同組換えが正しく起こった場合に内在性プロモーター（ECAT遺伝子プロモーター）によりマーカー遺伝子が発現するというものである。以下、当該プロモータートラップ法によりECAT遺伝子発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させる方法につき具体例を示す。

#### 【0040】

まず、ターゲッティングに必要なECAT遺伝子のゲノム配列を決定する。当該ゲノム配列は、例えば公的データベースであるMouse Genome Resources (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/mouse/>)等において既に公知である場合はこの配列情報をを利用して配列決定することができる。また未知の場合は、配列番号：1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35または37に記載のECAT遺伝子の一部をプライマーとして用い、当業者入手可能なゲノムライブラリーをPCR法等でスクリーニングすることにより、所望のECAT遺伝子のゲノム領域を含有するゲノミッククローンを単離することや、ゲノム塩基配列を決定することができる。ここで用いるゲノムライブラリーとしては、例えばマウスBAC(bacterial artificial chromosome)ライブラリー（Invitrogen）やPAC(P1-derived artificial chromosome)ライブラリー（Invitrogen）等が挙げられる。

#### 【0041】

次に、前記で同定したECAT遺伝子のゲノムDNA配列に基づき、マーカー遺伝子と置き換えるECAT遺伝子ゲノム領域を決定する（以下、ECATゲノム領域Aと称する）。このECATゲノム領域Aを挟む5'側領域（5'アーム）と3'側領域（3'アーム）を、ゲノムDNAを鋳型としてPCRを行うことなどにより増幅する。ここで鋳型となるゲノムDNAとしては、ECAT遺伝子を含有するマウスBACクローンのゲノムDNA等が挙げられる。PCRのプライマーは前記ECAT遺伝子ゲノムDNAの配列に基づき設計することができる。増幅した5'アームおよび3'アームを、プロモータートラップ用ターゲッティングベクターのマーカー遺伝子カセットを挟む両側に挿入する。ここで用いるプロモータートラップ用ターゲッティングベクターとしては、例えばIRES (internal ribosome entry site)- $\beta$ geo ( $\beta$ ガラクトシダーゼとネオマイシン耐性遺伝子の融合遺伝子) カセット (Mountford P. et al., Proc. Natl. Sci. USA, 91:4303-4307(1994)) を含有するpBSSK(-)-IRES- $\beta$ geoや、IRES-Hygro (ハイグロマイシン耐性遺伝子) カセットを含有する同様のベクターなどを挙げることができる。ここでIRES-Hygroカセットは、前記IRES- $\beta$ geoカセットの $\beta$ geo部分をHygro (Invitrogen) に置き換えることなどにより作製することができる。

次に作製されたターゲッティングベクターを制限酵素で消化して直鎖化し、これをエレクトロポレーション等によりES細胞に導入する。

#### 【0042】

導入に用いるES細胞としては、たとえばRF8細胞 (Meiner, V. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 14041-14046(1996))、JI細胞 (Li, E. et al., Cell, 69:915-926(1992))、CGR8細胞 (Nichols, J. et al., Development, 110:1341-1348(1990))、MG1.19細胞 (Gassman, M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 92:1292-1296(1995))や、市販されているマウスES細胞 129SV (No. R-CMTI-1-15, R-CMTI-1A)、マウスES細胞 C57/BL6 (No. R-CMTI-2A)、マウスES細胞DBA-1 (No. R-CMTI-3A)（以上大日本製薬）等のES細胞が挙げられる。

**【0043】**

ターゲッティングベクターのES細胞への導入は、エレクトロポレーション (Meiner, V. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 14041-14046 (1996) 等参照) 、リン酸カルシウム法、DEAE-デキストラン法、エレクトロポレーション法、遺伝子導入用リピッド (Lipofectamine, Lipofectin; Invitrogen) を用いる方法などにより行われる。その後当該ターゲッティングベクターが導入されたES細胞を、用いたマーカー遺伝子（例えば薬剤耐性遺伝子）の特性に基づき選択する。選択されたES細胞において正しく相同組み換えが起こっていることはECAT遺伝子の一部をプローブとして用いたサザンプロット等により確認することができる。以上のようにしてECATゲノム遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をヘテロで含有するES細胞を作製することができる。

**【0044】**

ES細胞の培養には、当業者に知られた如何なる培地を用いても良い。例えばRF8細胞の場合、以下の組成：15%FBS、0.1mM Non Essential Amino Acids (GIBCO BRL)、2mM L-glutamine、50U/mlペニシリン-ストレプトマイシン、0.11mM 2-ME (GIBCO BRL)/Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) の培地等が挙げられる。また市販の調製済み培地（例えば大日本製薬No.R-ES-101等）を用いることもできる。

**【0045】**

ES細胞の培養においてフィーダー細胞を用いる場合、当該フィーダー細胞は、マウス胚から常法により調製した纖維芽細胞や纖維芽細胞由来のSTO細胞株 (Meiner, V. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 14041-14046 (1996)) を用いても良く、また市販品を用いても良い。市販品としては、例えば PMEF-N、PMEF-NL、PMEF-H、PMEF-HL (以上大日本製薬)などのフィーダー細胞が挙げられる。フィーダー細胞は、マイトイシンC処理することにより増殖を停止させた後にES細胞の培養に用いることが望ましい。

また、ES細胞の培養において前記フィーダー細胞を用いない場合は、LIF (Leukemia Inhibitory Factor) を添加して培養を行うことができる。LIFとしてはマウス組み換えLIF、ラット組み換えLIF (ケミコン社等) などが用いられる。

**【0046】**

次に、前記ターゲッティングベクターを含有するES細胞をマウスに導入してノックアウトマウス（マーカー遺伝子ノックインマウス）を作製する。当該マーカー遺伝子ノックインマウスの作製方法は当業者に周知である。具体的には、前記ES細胞をマウス（例えばC57BL/6等）の胚盤胞 (blastocyst) にインジェクトし、偽妊娠させたメスのマウス (ICR等) の子宮内に移植することによりキメラマウスを作製する。その後キメラマウスと通常のマウス (C57BL/6等) とを交配させ、マーカー遺伝子がヘテロでノックインされたヘテロ変異マウスを作製する。ヘテロ変異マウス同士を交配させることにより、マーカー遺伝子がホモでノックインされたホモ変異マウスが得られる。

**【0047】**

本発明のスクリーニングで用いる体細胞は、前記ヘテロ変異マウスから単離された体細胞であっても、またホモ変異マウスから単離された体細胞であっても良い。しかしながら、本発明のスクリーニングにおける体細胞からES様細胞への変換ステップ、およびES様細胞の維持を可能とするために、ES細胞の維持に必須のECAT遺伝子をノックアウトした場合は、ヘテロ変異マウス由来の体細胞を用いる必要がある。当該ES細胞の維持に必須のECAT遺伝子としては、具体的にはECAT4遺伝子 (Mitsui, K., et al., Cell, 113: 631-642 (2003)) が挙げられる。一方、ES細胞の維持に必須でないECAT遺伝子をノックアウトする場合は、ヘテロ変異マウス由来の体細胞を用いても、ホモ変異マウス由来の体細胞を用いても良い。当該ES細胞の維持に必須でないECAT遺伝子としては、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT5遺伝子が挙げられる。すなわちECAT3遺伝子に関しては文献 (Tokuzawa, Y., et al., Molecular and Cellular Biology, 23(8): 2699-2708 (2003)) に示されるように、ECAT5遺伝子に関しては文献 (Takahashi, K., et al., Nature, 423: 541-545 (2003)) に示されるように、またECAT2遺伝子については後述の実施例において初めて明らかにされたように、これらのECATはES細胞の維持に影響を与えない因子である。このうちECAT2遺伝

子およびECAT3遺伝子はES細胞の維持だけでなく増殖にも影響を与えないため、ホモ変異マウス由来の体細胞を用いる場合は、ECAT2遺伝子またはECAT3遺伝子にマーカー遺伝子をノックインしたホモ変異ノックインマウス由来の体細胞を利用することが好ましい。

#### 【0048】

ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有することにより、ヘテロで含有した場合と比較して、マーカー遺伝子が2倍発現していることになるので、マーカー発現細胞の選択が正確かつ容易になるという利点がある。この観点からECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子は非常に有用なターゲットである。

#### 【0049】

さらに、異なるECAT遺伝子のホモ変異マウス同士を交配させることにより、ダブルノックインマウスを作製することができる。例えばECAT2遺伝子のホモ変異マウスと、ECAT3遺伝子のホモ変異マウスを交配させることにより、ECAT2遺伝子とECAT3遺伝子の両方がマーカー遺伝子に置き換えられたダブルノックインマウスを作製することができる。その際、各ECAT遺伝子には、それぞれ異なるマーカー遺伝子がノックインされていることが好ましい。この場合、2つの異なるマーカー遺伝子（例えばネオマイシン耐性遺伝子とハイグロマイシン耐性遺伝子）により二重に選択する事が可能となるため、本発明のスクリーニングにおいて擬陽性のES様細胞を選択する可能性が減少し、スクリーニングの成功確度が格段に向上できる。

#### 【0050】

具体的には、ECAT2遺伝子とECAT3遺伝子がマーカー遺伝子に置き換えられたダブルノックインマウス、ECAT2遺伝子とECAT4遺伝子がマーカー遺伝子に置き換えられたダブルノックインマウス、ECAT2遺伝子とECAT5遺伝子がマーカー遺伝子に置き換えられたダブルノックインマウス、ECAT3遺伝子とECAT4遺伝子がマーカー遺伝子に置き換えられたダブルノックインマウス、ECAT3遺伝子とECAT5遺伝子がマーカー遺伝子に置き換えられたダブルノックインマウス、ECAT4遺伝子とECAT5遺伝子がマーカー遺伝子に置き換えられたダブルノックインマウス、に由来する体細胞が例示される。好ましくはECAT2遺伝子とECAT3遺伝子がホモでマーカー遺伝子に置き換えられたダブルノックインマウス由来の体細胞が挙げられる。

#### 【0051】

以上のノックインマウスから単離する体細胞は、如何なる体細胞であっても良いが、その後のスクリーニングにおける取り扱いの容易さから、例えばリンパ球、皮膚細胞、纖維芽細胞などが挙げられる。これらの細胞は当業者に周知の手法にて単離することができる。

#### 【0052】

以上のように、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした体細胞を個体（マウス）レベルで維持することにより、あらゆる組織から、いつでも容易に体細胞を調製する事が可能となるため、前記手法は非常に好ましい体細胞の供給方法である。

#### 【0053】

(1-2) 個体を利用せずに細胞レベルでマーカー遺伝子を存在させる方法

個体を利用せずに、細胞内において、ECAT遺伝子発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させる方法はいろいろ知られており、当業者に周知の如何なる方法を用いてマーカー遺伝子を存在させても良い。一般的には、マーカー遺伝子を含有するベクターを細胞に導入する方法が挙げられる。

#### 【0054】

遺伝子導入に用いられる細胞は、体細胞であってもES細胞であっても良い。ここで用いる体細胞としては、マウス、ヒト、サル等の如何なる種に由来する体細胞であっても良い。当該体細胞は初代培養細胞であっても株化細胞であっても良く、具体的には、胎児纖維芽細胞（MEF）、骨髄由来間葉系幹細胞等の初代培養細胞や、NIH3T3のような株化細胞などが挙げられる。またES細胞としては、前記に挙げたマウスES細胞の他、ヒトやサルのES細胞も用いることができる。ここでヒトES細胞としては、KhES-1、KhES-2あるいはKhES-

3(以上、京大再生研付属幹細胞医学研究センター)などが挙げられ、またサルES細胞としてはカニクイザルES細胞(旭テクノグラス)を挙げることができる。

#### 【0055】

細胞へのベクターの導入方法としては、前記宿主細胞に適合した通常の導入方法を用いれば良い。具体的にはリン酸カルシウム法、DEAE-デキストラン法、エレクトロポレーション法、遺伝子導入用リピッド(Lipofectamine、Lipofectin; Invitrogen)を用いる方法などが挙げられる。

#### 【0056】

導入に用いるベクターとしては、BACベクター、プラスミドベクター、さらには前記(1-1)に記載したターゲッティングベクターなどが挙げられる。以下これら各ベクターを用いてECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた体細胞を作製する方法について記載する。

#### 【0057】

##### (a)BACベクターを用いる場合

ECAT遺伝子の発現調節領域を含有するBACベクターを利用することにより、ECAT遺伝子発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させることができる。ここで用いるECAT遺伝子の発現調節領域を含有するBACクローン(以下ECAT遺伝子含有BACクローンと称する)は、前記(1-1)に記述したように、ECAT遺伝子の配列情報に基づき単離・同定することができる。ECAT遺伝子含有BACクローンにおいて、ECAT遺伝子の一部をマーカー遺伝子に置き換えるには、例えばRed/ET Recombination(Gene Bridges)を用いて容易に行うことができる。各ECAT遺伝子の発現調節領域は、通常、ECAT遺伝子のエクソン1より上流域に存在する。従って、ECAT遺伝子の発現調節領域によりマーカー遺伝子が発現調節を受けるためには、当該マーカー遺伝子は、ECAT遺伝子のエクソン1より下流域に存在させることが望ましい。この場合、エクソン1より下流であれば、ECAT遺伝子上のどのような位置にマーカー遺伝子を存在させても良い。

#### 【0058】

以上のようにして作製されたECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させたBACベクターを体細胞に導入することにより、本発明のスクリーニング用の体細胞とすることができます。ここで導入するBACベクターは1種類であっても、異なるECAT遺伝子を含有する2種類以上のBACベクターであっても良い。なお、当該BACベクター導入細胞を選択培地で容易に選択できるように、BACベクター中に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子(以下第2の薬剤耐性遺伝子と称する)が挿入されていることが好ましい。この場合、体細胞での発現を可能とするために、当該第2の薬剤耐性遺伝子の5'側または3'側に体細胞で発現するプロモーターが付加されている必要がある。また当該第2の薬剤耐性遺伝子は、ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に存在するマーカー遺伝子と同じ種類の薬剤耐性遺伝子であっても良く、異なる種類の薬剤耐性遺伝子であっても良いが、異なる種類の薬剤耐性遺伝子であることが望ましい。前記で同じ種類の薬剤耐性遺伝子を用いた場合は、第2の薬剤耐性遺伝子の両側にloxP配列またはFRT配列を付加しておき、BACベクター導入細胞を選択培地で選択した後に、リコンビナーゼCreまたはFLPにより第2の薬剤耐性遺伝子を切り出すことができる。

前記と異なり、BACベクター中に第2の薬剤耐性遺伝子を挿入しない場合は、当該第2の薬剤耐性遺伝子を含有する第2の発現ベクターを、前記BACベクターと共に共導入(co-transfection)し、選択培地で選択しても良い。その場合、第2の発現ベクターよりもBACベクターを大過剰に用いて導入を行うことが望ましい。

#### 【0059】

前記ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させたBACベクターをES細胞に導入した場合は、用いたマーカー遺伝子の性質に基づき、マーカー遺伝子が導入・発現しているES細胞を選択することができる。その後、当該ES細胞を体細胞に分化させることにより、本発明のスクリーニングに用いる体細胞とすることができる。ES細胞はフィーダー細胞の存在しない培養条件下で分化するため、このような条

件下で分化させて得られた体細胞や、レチノイン酸等の当業者に知られた分化誘導剤で分化させて得られた体細胞を、本発明のスクリーニングに用いることができる。ここでES細胞から分化させた体細胞としては、例えば組織幹細胞、組織前駆細胞、または体細胞（神経細胞、皮膚角質細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、血液細胞、臍島細胞または色素細胞など）が挙げられる。

#### 【0060】

##### (b) プロモーターを有さないプラスミドベクターを用いる場合

ECAT遺伝子の発現調節領域とマーカー遺伝子との融合遺伝子を、プロモーターを有さないプラスミドベクターに挿入し、細胞を形質転換することにより、本発明のスクリーニング用の細胞を作製することができる。

ここで用いるベクターとしては、例えば pBluescript(Stratagene)、pCR2.1(Invitrogen)といったプロモーターを有さないプラスミドベクターが挙げられる。

ここで用いるECAT遺伝子の発現調節領域は、例えば該遺伝子の転写開始部位上流約1kb、好ましくは約2kbが挙げられる。

#### 【0061】

各ECAT遺伝子の発現調節領域は、例えば(i)5'-RACE法（例えば、5' full Race Core Kit(宝酒造社製)等を用いて実施される）、オリゴキヤップ法、S1プライマーマッピング等の通常の方法により5'末端を決定するステップ；(ii)Genome Walker Kit(クローンテック社製)等を用いて5'-上流領域を取得し、得られた上流領域について、プロモーター活性を測定するステップ；を含む手法等により同定することができる。このようにして同定したECAT遺伝子発現調節領域の3'側にマーカー遺伝子を融合し、これを前記プラスミドベクターに挿入することにより、ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させたプラスミドベクターを作製することができる。

以上のようにして作製したベクターを、前記(a)と同様にして体細胞やES細胞に導入することにより、本発明のスクリーニング用体細胞を作製することができる。

#### 【0062】

##### (c) ターゲッティングベクターを用いる場合

前記(1-1)に記載したターゲッティングベクターを体細胞若しくはES細胞に導入することによっても、本発明のスクリーニング用体細胞を作製することができる。

前記ターゲッティングベクターを体細胞に導入する場合は、ベクター導入細胞を選択培地中で容易に選択できるように、前記(a)と同様に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子（第2の薬剤耐性遺伝子）をターゲッティングベクター上に存在させるか、またはターゲッティングベクターと共に第2の薬剤耐性遺伝子を含有する第2の発現ベクターを共導入(co-transfection)し、選択培地で選択して得られた体細胞を本発明のスクリーニングに用いることがより好ましい。その場合、第2の発現ベクターよりも前記ターゲッティングベクターを大過剰に用いて導入を行うことが望ましい。

#### 【0063】

前記体細胞は、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をヘテロで含有していても良く、またホモで含有していても良い。前述のようにECAT4遺伝子を利用する場合は前記ノックイン遺伝子をヘテロで含有することが望ましく、またECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子およびECAT5遺伝子（特にECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子）を利用する場合は、前記ノックイン遺伝子をホモで含有することが望ましい。ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をホモで含有する体細胞は、ノックイン遺伝子をヘテロで含有する体細胞に、さらにノックイン遺伝子（マーカー遺伝子を含有するターゲッティングベクター）を導入することにより作製することができる。またノックイン遺伝子をヘテロで含有する体細胞を高濃度の薬剤を含む選択培地で培養することによっても、選択することができる。

さらに、前記ノックイン遺伝子をホモで含有する体細胞に対して別のノックイン遺伝子（別のECAT遺伝子がノックアウトされた遺伝子）を導入することにより、前記(1-1)と同様のダブルノックイン細胞を作製することができる。

#### 【0064】

前記ターゲッティングベクターをES細胞に導入する場合は、ターゲッティングベクター上のマーカー遺伝子の性質に基づいて、マーカー遺伝子導入・発現細胞を選択することができる。当該ES細胞も、前記体細胞と同様、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子をヘテロで含有していても良く、またホモで含有していても良い。ES細胞から体細胞への誘導方法は、前記(a)と同様である。

#### 【0065】

本発明のスクリーニング工程(a)においては、以上のようにして作製した体細胞と、被験物質とを接触させる。

ここで用いられる被験物質は、制限されないが、核酸、ペプチド、タンパク質、有機化合物、無機化合物などであり、本発明のスクリーニングは、具体的にはこれらの被験物質またはこれらを含む試料(被験試料)を前記体細胞と接触させることにより行われる。かかる被験試料としては、細胞抽出液、遺伝子(ゲノム、cDNA)ライブラリー、RNAiライブラリー、アンチセンス核酸、合成低分子化合物、合成ペプチド、天然化合物などが挙げられる。具体的には、実施例に示したES細胞、またはES細胞の抽出液(抽出画分)、ES細胞由来のcDNAライブラリーまたはゲノムライブラリー、増殖因子などが挙げられる。

これら被験試料は、体細胞への取り込み可能な形態で体細胞と接触させる。例えば被験試料が核酸(cDNAライブラリー等)の場合は、リン酸カルシウム、DEAE-デキストランや遺伝子導入用リピッドを用いて体細胞に導入する。

#### 【0066】

体細胞と被験物質とを接触させる条件は、該細胞が死滅せず且つ被験物質が取り込まれるのに適した培養条件(温度、pH、培地組成など)であれば特に制限はない。

前記体細胞と被験物質との接触の際に、若しくは接触後に、ES細胞の培養条件で細胞培養を行う。ES細胞の培養は、当業者に知られた如何なる方法を用いても良い。例えばRF8細胞の場合、以下の組成：15%FBS、0.1mM Non Essential Amino Acids(GIBCO BRL)、2mM L-glutamine、50U/mlペニシリン-ストレプトマイシン、0.11mM 2-ME(GIBCO BRL)/Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)の培地等が挙げられる。また市販の調製済み培地(例えば大日本製薬No.R-ES-101等)を用いることもできる。

#### 【0067】

ES細胞の培養においてフィーダー細胞を用いる場合、当該フィーダー細胞は、マウス胚から常法により調製した纖維芽細胞や纖維芽細胞由来のSTO細胞株(Meiner, V. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 14041-14046(1996))を用いても良く、また市販品を用いても良い。市販品としては、例えばPMEF-N、PMEF-NL、PMEF-H、PMEF-HL(以上大日本製薬)などのフィーダー細胞が挙げられる。フィーダー細胞は、マイトマイシンC処理することにより増殖を停止させた後にES細胞の培養に用いることが望ましい。

また、ES細胞の培養において前記フィーダー細胞を用いない場合は、LIF(Leukemia Inhibitory Factor)を添加して培養を行うことができる。LIFとしてはマウス組み換えLIF、ラット組み換えLIF(ケミコン社等)などが挙げられる。

前記ES細胞の培養条件における培養日数は、細胞の状態等により適宜変更できるが、1日～3日程度が好ましい。

#### 【0068】

マーカー遺伝子として薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子を用いた場合は、対応する薬剤を含む培地(選択培地)で選択を行う。当該薬剤は、被験物質との接触の際に培地に含まれていても良く、また接触後に含ませても良い。さらに、ES細胞の培養条件で培養した後に前記薬剤を培地に含ませても良い。

#### 【0069】

前記工程の後、マーカー遺伝子発現細胞の出現の有無を調べ、該細胞を出現させた被験物質を体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する(工程(b))。以下当該工程(b)について記述する。

#### 【0070】

マーカー遺伝子が薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子の場合は、前記のように選択培地で培養

することによりマーカー遺伝子発現細胞を選択することができる。またマーカー遺伝子が蛍光タンパク質遺伝子の場合は蛍光顕微鏡で観察することによって、発光酵素遺伝子の場合は発光基質を加えることによって、また発色酵素遺伝子の場合は発色基質を加えることによって、マーカー遺伝子発現細胞を検出することができる。

マーカー遺伝子発現細胞が認められた場合、ここで用いた被験試料（被験物質）を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。

前記スクリーニングは、必要に応じて何度も繰り返し行うことができる。例えば1回目のスクリーニングでcDNAライブラリーや細胞抽出物といった混合物を用いた場合、2回目以降は、さらに当該混合物を細分化（分画）して同様のスクリーニングを繰り返し行うことにより、最終的に、体細胞核初期化因子の候補物質を選択することができる。

#### 【0071】

以下、前記本発明のスクリーニング方法の具体例として、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子を利用した本発明のスクリーニング方法につき例示するが、他のECAT遺伝子についても以下を参考にして同様のスクリーニングを実施することができる。

#### 【0072】

##### 例1：ECAT2遺伝子を利用したスクリーニング

ECAT2遺伝子を利用した本発明のスクリーニング方法の具体例として、以下(a)及び(b)

：

- (a) ECAT2遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、
  - (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、
- を含むスクリーニング方法が例示される。

#### 【0073】

後述の実施例に示したように、ECAT2遺伝子はES細胞の維持・増殖に必須の因子ではない。従って、ECAT2遺伝子にマーカー遺伝子をホモでノックインした体細胞を用いて本発明のスクリーニングを行ことが好ましい。

ECAT2遺伝子にマーカー遺伝子をホモでノックインしたノックインマウス（ECAT $2^{\beta\text{ geo}}$ / $\beta\text{ geo}$ マウス）は、例えば後述の実施例3に記載の方法で作製することができる。このECAT $2^{\beta\text{ geo}}$ / $\beta\text{ geo}$ マウスからリンパ球、皮膚細胞などの体細胞を単離する。この体細胞に対して被験物質を添加し、ES細胞の培養条件（例えばMeiner, V.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 93(24): p14041-14046(1996)を参照）でフィーダー細胞上で細胞培養し、G418(0.25mg/ml)で選択を行う。G418による選択で生存細胞が認められた場合、ここで用いた被験物質を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。

#### 【0074】

例えば被験物質としてES細胞由来のcDNAライブラリーを用いる場合は、前記体細胞に対してリポフェクチン法等の公知の手法でcDNAライブラリー由来のcDNAプールをトランスフェクトし、前記手法にてG418で選択を行い、生存細胞の有無を確認する。生存細胞が確認された場合、そのcDNAプールをさらに幾つかのプールに分けて体細胞にトランスフェクトする。この実験を繰り返すことにより、最終的に、ES細胞由来の体細胞核初期化（候補）因子を選択することができる。

#### 【0075】

##### 例2：ECAT3遺伝子を利用したスクリーニング

ECAT3遺伝子を利用した本発明のスクリーニング方法の具体例として、以下(a)及び(b)

：

- (a) ECAT3遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、
- (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、

を含むスクリーニング方法が例示される。

#### 【0076】

後述の実施例に示したように、ECAT3遺伝子はES細胞の維持・増殖に必須の因子ではない。従って、ECAT3遺伝子にマーカー遺伝子をホモでノックインした体細胞を用いて本発明のスクリーニングを行ことが好ましい。

ECAT3遺伝子にマーカー遺伝子をホモでノックインしたノックインマウス (ECAT3 <sup>$\beta$  geo /  $\beta$  geo マウス) は、例えば後述の実施例1に記載の方法で作製することができる。このECAT3 <sup>$\beta$  geo /  $\beta$  geo マウスからリンパ球、皮膚細胞などの体細胞を単離する。この体細胞に対して被験物質を添加し、ES細胞の培養条件 (例えばMeiner, V.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 93(24): p14041-14046(1996)を参照) でフィーダー細胞上で細胞培養し、G418 (0.25mg/ml) で選択を行う。G418による選択で生存細胞が認められた場合、ここで用いた被験物質を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。</sup></sup>

#### 【0077】

例えば被験物質としてES細胞由来のcDNAライブラリーを用いる場合は、前記体細胞に対してリポフェクチン法等の公知の手法でcDNAライブラリー由来のcDNAプールをトランスフェクトし、前記手法にてG418で選択を行い、生存細胞の有無を確認する。生存細胞が確認された場合、そのcDNAプールをさらに幾つかのプールに分けて体細胞にトランスフェクトする。この実験を繰り返すことにより、最終的に、ES細胞由来の体細胞核初期化(候補)因子を選択することができる。

#### 【0078】

##### 例3：ECAT4遺伝子を利用したスクリーニング

ECAT4遺伝子を利用した本発明のスクリーニング方法の具体例として、以下(a)及び(b)

：

- (a) ECAT4遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、
  - (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、
- を含むスクリーニング方法が例示される。

#### 【0079】

ECAT4遺伝子はES細胞の維持・増殖に必須の因子である。従って、ECAT4遺伝子にマーカー遺伝子をヘテロでノックインした体細胞を用いて本発明のスクリーニングを行う。

ECAT4遺伝子にマーカー遺伝子をヘテロでノックインしたノックインマウス (ECAT4 <sup>$\beta$  geo / + マウス) の作製は、文献 (Mitsui, K., et al., Cell, 113: 631-642(2003)) に記載の方法等で作製することができるが、簡単に述べると以下の方法が例示される。</sup>

#### 【0080】

マウスECAT4遺伝子のエクソン2を、IRES- $\beta$  geoカセット (Mountford et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91:4303-4307(1994) ) で置き換えるためのターゲッティグベクターを以下のように作製する。ECAT4のイントロン1を含有する4kbフラグメントを、マウスゲノムDNAを鋳型とし、プライマー (AGGGTCTGCTACTGAGATGCTCTG(配列番号：39)、AGGCAGGTCTTCAG AGGAAGGGCG(配列番号：40)) を用いてPCRで増幅することにより5'側アームを作製する。またエクソン3-イントロン3-エクソン4を含有する1.5kbフラグメントを、マウスゲノムDNAを鋳型とし、プライマー (CGGGCTGTAGACCTGTCTGCATTCTG (配列番号：41)、GGTCCTTCTGT CTCATCCTCGAGAGT (配列番号：42) ) 用いてPCRで増幅することにより3'側アームを作製する。これら5'側アームと3'側アームをIRES- $\beta$  geoカセットにライゲートし、ターゲッティングベクターを作製する。このターゲッティングベクターをSacIIで切断し、エレクトロポレーションによりRF8 ES細胞に導入する (Meiner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93 : 14041-14046(1996)参照)。その後G418選択培地にて、相同組み換えが正しく起こったクローニングを選択する。この $\beta$  geoとの相同組み換えES細胞をマウスのプラストシストにインジェクションすることによりキメラマウスを経てヘテロ変異マウス (ECAT4 <sup>$\beta$  geo / + マウス) を樹立する。</sup>

**【0081】**

次にこのECAT4 $\beta$ geo/+マウスからリンパ球、皮膚細胞などの体細胞を単離する。この体細胞に対して被験物質を添加し、ES細胞の培養条件（例えばMeiner, V.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 93(24): p14041-14046(1996)を参照）でフィーダー細胞上で細胞培養し、G418 (0.25mg/ml) で選択を行う。G418による選択で生存細胞が認められた場合、ここで用いた被験物質を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。

例えば被験物質としてES細胞由来のcDNAライブラリーを用いる場合は、前記体細胞に対してリポフェクチン法等の公知の手法でcDNAライブラリー由来のcDNAプールをトランスフェクトし、前記手法にてG418で選択を行い、生存細胞の有無を確認する。生存細胞が確認された場合、そのcDNAプールをさらに幾つかのプールに分けて体細胞にトランスフェクトする。この実験を繰り返すことにより、最終的に、ES細胞由来の体細胞核初期化(候補)因子を選択することができる。

**【0082】**例4：ECAT5遺伝子を利用したスクリーニング

ECAT5遺伝子を利用した本発明のスクリーニング方法の具体例として、以下(a)及び(b)

：

- (a) ECAT5遺伝子に薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、
  - (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、
- を含むスクリーニング方法が例示される。

**【0083】**

後述の実施例に示したように、ECAT5遺伝子はES細胞の維持に必須の因子ではない。従って、ECAT5遺伝子にマーカー遺伝子をホモでノックインした体細胞を用いて本発明のスクリーニングを行ことが好ましい。

ECAT5遺伝子にマーカー遺伝子をホモでノックインしたノックインマウス (ECAT5 $\beta$ geo/ $\beta$ geoマウス) は、例えば後述の実施例2に記載の方法(特開2003-265166号公報)で作製することができる。このECAT5 $\beta$ geo/ $\beta$ geoマウスからリンパ球、皮膚細胞などの体細胞を単離する。この体細胞に対して被験物質を添加し、ES細胞の培養条件（例えばMeiner, V. L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 93(24): p14041-14046(1996)を参照）でフィーダー細胞上で細胞培養し、G418 (0.25mg/ml) で選択を行う。G418による選択で生存細胞が認められた場合、ここで用いた被験物質を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。

**【0084】**

例えば被験物質としてES細胞由来のcDNAライブラリーを用いる場合は、前記体細胞に対してリポフェクチン法等の公知の手法でcDNAライブラリー由来のcDNAプールをトランスフェクトし、前記手法にてG418で選択を行い、生存細胞の有無を確認する。生存細胞が確認された場合、そのcDNAプールをさらに幾つかのプールに分けて体細胞にトランスフェクトする。この実験を繰り返すことにより、最終的に、ES細胞由来の体細胞核初期化(候補)因子を選択することができる。

**【0085】**例5：2つのECAT遺伝子を利用したスクリーニング

前述のように、2つの異なるECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインしたホモ変異マウス同士を交配させることによりダブルノックインマウスを作製することができ、当該マウス由来の体細胞をスクリーニングに用いることができる。具体的には、ECAT2遺伝子とECAT3遺伝子の組み合わせに係るダブルノックインマウス由来の体細胞を用いたスクリーニング方法が例示される。すなわちECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子を利用した本発明のスクリーニング方法の具体例として、以下(a)及び(b)：

- (a) ECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子に、それぞれ薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞の有無を調べ、該生存細胞を生じさせた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程、を含むスクリーニング方法が例示される。

#### 【0086】

ここでノックインされる薬剤耐性遺伝子は、ECAT2遺伝子とECAT3遺伝子とで異なっていることが望ましい。この場合、2つの異なる薬剤耐性遺伝子（例えばネオマイシン耐性遺伝子とハイグロマイシン耐性遺伝子）により二重に選択することが可能となるため、本発明のスクリーニングにおいて擬陽性のES様細胞を選択する可能性が減少し、スクリーニングの成功確度が格段に向上される。

#### 【0087】

ECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子のダブルノックインマウス ( $\text{ECAT2}^{\text{Hygro/Hygro}} \text{ECAT3}^{\beta_{\text{geo}/\beta_{\text{geo}}}}$  マウス) は、後述の実施例1および3（ただし薬剤耐性遺伝子がハイグロマイシン耐性遺伝子）で作製したECAT2<sup>Hygro/Hygro</sup>マウスとECAT3 <sup>$\beta_{\text{geo}/\beta_{\text{geo}}}$</sup> マウスとを交配されることにより得ることができる。このECAT2<sup>Hygro/Hygro</sup> ECAT3 <sup>$\beta_{\text{geo}/\beta_{\text{geo}}}$</sup> マウスからリンパ球、皮膚細胞などの体細胞を単離する。この体細胞に対して被験物質を添加し、ES細胞の培養条件（例えばMeiner, V.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 93(24): p14041-14046(1996)を参照）でフィーダー細胞上で細胞培養し、G418(0.25mg/ml) およびハイグロマイシン (0.1mg/ml) で選択を行う。この選択で生存細胞が認められた場合、ここで用いた被験物質を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。

#### 【0088】

例えば被験物質としてES細胞由来のcDNAライブラリーを用いる場合は、前記体細胞に対してリポフェクチン法等の公知の手法でcDNAライブラリー由来のcDNAプールをトランスフェクトし、前記手法にてG418およびハイグロマイシンで選択を行い、生存細胞の有無を確認する。生存細胞が確認された場合、そのcDNAプールをさらに幾つかのプールに分けて体細胞にトランスフェクトする。この実験を繰り返すことにより、最終的に、ES細胞由来の体細胞核初期化(候補)因子を選択することができる。

#### 【0089】

本発明のスクリーニングで選択された体細胞核初期化(候補)因子が体細胞の核を初期化するか否かは、(1) 当該核初期化(候補)因子により体細胞から変換されたES様細胞がOct3/4やEcat4(Nanog)といったES細胞のマーカー遺伝子を発現しているか否か、(2) 前記ES細胞が *in vitro*においてレチノイン酸刺激等で分化するか否か、(3) 前記ES細胞をマウスプラストシストにインジェクションしてキメラマウスが誕生するか等を調べることにより、確認することができる。

#### 【0090】

##### (2) 本発明の核初期化物質

本発明は、前記本発明のスクリーニング方法を用いて選択される核初期化物質を提供する。当該核初期化物質は、核酸、ペプチド、タンパク質、有機化合物、無機化合物のいずれかであり、好ましくは、ES細胞由来の遺伝子またはタンパク質が例示される。本発明の核初期化物質は、幹細胞療法において有用である。すなわち、患者から体細胞（組織幹細胞、分化細胞）を採取し、これに本発明の核初期化物質を添加することにより、ES様細胞が出現する。このES様細胞をレチノイン酸、増殖因子（例えばEGF、FGF-2、BMP-2、LIF等）、またはグルココルチコイドなどにより、神経細胞、心筋細胞または血球細胞などに分化させ、これを患者に戻すことにより、幹細胞療法を達成することができる。

#### 【0091】

##### (3) 本発明のノックインマウス

従来、ある遺伝子にマーカー遺伝子をノックインしたノックインマウスは、その遺伝子の機能解析のために利用されてきた。また場合によっては疾患モデル動物となり得るケースもあった。しかしながら本発明で開示された新たなスクリーニング方法で用いる体細胞の供給源としての利用はなされていない。

本発明は、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を含有するノックイン

マウスの、本発明のスクリーニングにおいて用いる体細胞の供給源としての用途を提供するものである。

#### 【0092】

当該ノックインマウスの作製法等については、前記(1)本発明のスクリーニング方法および後述の実施例において詳しく述べた通りである。当該ノックインマウスは、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子及び/又はECAT5遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を、ホモで含有することが好ましい。一方、ECAT4遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子はヘテロで含有することが好ましい。マーカー遺伝子としては、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子が挙げられる。中でも薬剤耐性遺伝子を含有する遺伝子が好ましい。

#### 【0093】

##### (4) 本発明の体細胞

本発明は、ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞を提供する。

当該体細胞の作製法等については、前記(1)本発明のスクリーニング方法および後述の実施例において詳しく述べた通りである。

#### 【0094】

当該体細胞においては、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子、ECAT4遺伝子およびECAT5遺伝子から選択される1または2以上の遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に、マーカー遺伝子を存在させることが好ましい。ここでマーカー遺伝子としては、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、発色酵素遺伝子またはこれらの組み合わせに係る遺伝子が挙げられる。中でも薬剤耐性遺伝子を含有する遺伝子が好ましい。

当該体細胞は、前記(1)本発明のスクリーニング方法に示したように、ECAT遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を含有する体細胞であることが好ましい。その際、当該体細胞は、ECAT2遺伝子、ECAT3遺伝子及び/又はECAT5遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子を、ホモで含有することが好ましい。一方、ECAT4遺伝子にマーカー遺伝子をノックインした遺伝子はヘテロで含有することが好ましい。

このような本発明の体細胞は、前記本発明のスクリーニング方法、または後述の本発明のES様細胞の選択方法において、有効に使用される。

#### 【0095】

##### (5) 本発明のES様細胞の選択方法

本発明はまた、以下の(a)および(b)の工程：

(a) ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、

(b) 前記(a)の工程の後、マーカー遺伝子発現細胞をES様細胞として選択する工程、を含むES様細胞の選択方法を提供する。

#### 【0096】

前記本発明のスクリーニング方法において述べたようなECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた体細胞は、ES様細胞の選択のためにも有効に用いられる。例えば幹細胞療法を念頭においていた場合、ヒトの体細胞を核初期化物質で刺激することにより出現したES様細胞を、他の細胞（体細胞）から分離（純化）し、後の治療に用いることが望ましい。前述のように、本発明のシステムは、薬剤耐性遺伝子等のマーカー遺伝子の発現を指標として、ES様細胞を容易に選択できるシステムであるため、ES様細胞を選択・分離する際に有効に用いることができる。

本発明のES様細胞の選択方法は、前記ヒトの治療のみならず、イン・ビトロおよびイン・ビボでのES細胞関連の様々な研究において、ES細胞を選択（分離）する如何なる目的においても使用することができる。

#### 【0097】

前記において、1)ECAT遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞の作製方法、2)当該体細胞と体細胞核初期化物

質との接触方法、および3)マークー遺伝子発現細胞の選択方法については、全て「(1)本発明のスクリーニング方法」に記述したものと同様である。なお、マークー遺伝子として薬剤耐性遺伝子を含む遺伝子を用いた場合は選択培地で培養することにより、マークー遺伝子発現細胞を容易に選択(分離)することができる。またマークー遺伝子として蛍光タンパク質遺伝子、発光酵素遺伝子、または発色酵素遺伝子を用いた場合は、セルソーター、限界希釈法または軟寒天コロニー法などを利用することにより、当該細胞を選択(分離)することができる。

前記で「核初期化物質」とは前記本発明のスクリーニングで得られるような、体細胞の核初期化に関与する物質を指す。

#### 【0098】

本発明のES様細胞選択方法の具体例として、以下のECATを利用した方法が例示される。

すなわちECAT2遺伝子を利用した選択方法として、以下の(a)および(b)：

- (a) ECAT2遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程、を含むES様細胞の選択方法が例示される。

#### 【0099】

またECAT3遺伝子を利用した選択方法として、以下の(a)および(b)：

- (a) ECAT3遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程、を含むES様細胞の選択方法が例示される。

#### 【0100】

またECAT5遺伝子を利用した選択方法として、以下の(a)および(b)：

- (a) ECAT5遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程、を含むES様細胞の選択方法が例示される。

#### 【0101】

またECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子を利用した選択方法として、以下の(a)および(b)：

- (a) ECAT2遺伝子およびECAT3遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程、を含むES様細胞の選択方法が例示される。

#### 【0102】

またECAT4遺伝子を利用した選択方法として、以下の(a)および(b)：

- (a) ECAT4遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置に薬剤耐性遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、体細胞の核初期化物質とを接触させる工程、
- (b) 前記(a)の工程の後、選択培地中での生存細胞をES様細胞として選択する工程、を含むES様細胞の選択方法が例示される。

#### 【0103】

以上のようなES様細胞の選択方法において用いる体細胞は、ヒトの治療を念頭においた場合は、ECAT遺伝子発現調節領域により発現調節を受ける位置にマークー遺伝子を挿入したベクターを含有するヒト体細胞であることが望ましい。具体的には以下のようにして作製された体細胞が用いられる。

#### 【0104】

すなわちまず、患者の体細胞をヒトから単離することなどにより調製する。体細胞としては、疾患に関する体細胞、疾患治療に関する体細胞などが挙げられる。このヒト体細胞に対し、前記(1-2)の項に記載のいずれかのベクターを導入する。具体的にはBACベク

ター（ECAT遺伝子の発現調節領域の下流にマーカー遺伝子を存在させたBACベクター）を導入することが望ましい。ここで導入するBACベクターは1種類であっても、異なるECAT遺伝子を含有する2種類以上のBACベクターであっても良い。このBACベクター導入細胞に対して核初期化物質を添加することにより、ES様細胞を出現させる。このES様細胞を、用いたマーカー遺伝子の性質に応じて選択する。例えばマーカー遺伝子として薬剤耐性遺伝子を用いた場合は、核初期化物質添加後に選択培地で選択することにより、薬剤耐性を指標として、ES様細胞を容易に選択することができる。

### 【0105】

#### (6)本発明のES様細胞

本発明は、本発明のスクリーニングにより出現したマーカー遺伝子発現細胞を提供する。当該マーカー遺伝子発現細胞は、ES様細胞である。当該ES様細胞は、その後のインビトロおよびインビオでの評価において有効に用いることができる。すなわち当該ES様細胞の分化誘導能や、分化誘導した細胞の個体（マウス等）への移植定着などを調べることは、ヒトにおける幹細胞療法の予備検討やES細胞に関わる種々の研究において極めて重要である。本発明のES様細胞は、そのような研究や検討において有効に用いられる。

さらに本発明のES様細胞の選択法により出現したヒトのマーカー遺伝子発現細胞（ES様細胞）を、レチノイン酸、増殖因子（例えはEGF、FGF-2、BMP-2、LIF等）、またはグルココルチコイドなどにより、神経細胞、心筋細胞または血球細胞などに分化させ、これを患者に戻すことにより、幹細胞療法を達成することができる。

### 【0106】

以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によりなんら限定されるものではない。

#### 【実施例1】

### 【0107】

#### ECAT3遺伝子を利用したES類似細胞の選択システム

ECAT3遺伝子のコーディング領域を $\beta$ ガラクトシダーゼとネオマイシン耐性遺伝子の融合遺伝子（ $\beta$ geo）に置き換え、ECAT3遺伝子をノックアウトするとともに、ECAT3遺伝子の発現をX-Gal染色や薬剤耐性でモニターできるようにしたホモ変異ノックインマウス（以下、ECAT3 $\beta$ geo/ $\beta$ geoマウス）を作製した。このECAT3 $\beta$ geo/ $\beta$ geoマウスの作製は文献

(Tokuzawa, Y., et al., Molecular and Cellular Biology, 23(8): 2699-2708(2003)) の記載に基づき行った。簡単に述べると以下のようになる。

### 【0108】

まず、マウスECAT3遺伝子を含有するBACクローンを、ECAT3 cDNAの一部をプライマーに用いたPCRスクリーニングにより、BACライブラリー（Research Genetics）のDNAプールから同定し、塩基配列を決定した。

マウスECAT3遺伝子のエクソン3～エクソン7を、IRES- $\beta$ geoカセット（Mountford et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91:4303-4307(1994)）で置き換えるためのターゲッティグベクターを以下のように作製した。ECAT3のイントロン1～エクソン3を含有する1.4kbフラグメントを、前記マウスBAC DNAを鑄型とし、プライマー（ACCAAGGTACCGCATCCAA（配列番号：43）、CTTCACCAAGATTCCGATG（配列番号：44））を用いてPCRにより増幅することにより5'側アームを作製した。またエクソン7～エクソン8を含有する3.5kbフラグメントを、マウスBAC DNAを鑄型とし、プライマー（GAATGGTGGACTAGCTTTG（配列番号：45）、TGCCATGAA TGTCGATATGCAG（配列番号：46））を用いてPCRにより増幅することにより3'側アームを作製した。これら5'側アームと3'側アームを $\beta$ geoカセットにライゲートし、ターゲッティングベクターを作製した。このターゲッティングベクターをNotIで切断し、エレクトロポレーションによりRF8 ES細胞（Meiner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 14041-14046(1996)）に導入した。G418選択培地にて、相同組み換えが正しく起こったクローンを選択した。この $\beta$ geoとの相同組み換えES細胞をマウス(C57BL/6)のプラストシストにインジエクションすることによりキメラマウスを経てヘテロ変異マウス(ECAT3 $\beta$ geo/+マウス)を樹立し、さらにヘテロ変異マウス同士の交配から、ホモ変異マウス(ECAT3 $\beta$ geo/ $\beta$ geoマ

ウス)がメンデルの法則に従って誕生した。

#### 【0109】

次に、ECAT3 $\beta$  geo/ $\beta$  geoマウスの胸腺から常法によりリンパ球を採取した。この細胞を文献 (Meiner, V.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 93(24): p14041-14046 (1996)) に記載のES細胞の培養条件で2日間培養し、G418 (0.25mg/ml) で選択した。その結果、これらリンパ球はすべて死滅し、薬剤耐性コロニーは一つも得られなかった。またこのG418濃度では正常ES細胞はすべて死滅することも確認された。

#### 【0110】

次に、ECAT3 $\beta$  geo/ $\beta$  geoマウス由来のリンパ球とRF8細胞とを、多田らの方法 (Tada, M., et al., Curr. Biol., 11(19): p1553-1558 (2001)) に従って電気的に融合し、前記ES細胞の培養条件でフィーダー細胞 (ST0細胞) 上で2日間培養し、G418 (0.25mg/ml) で選択したところ、多数のES細胞様コロニーが得られた。これらのコロニーを単離、培養し、RNAを回収した。ノザンプロットによりこれらの細胞は全クローニングにおいてOct3/4やECAT4 (Nanog) を発現しており、またこのクローニングをマウスプラストシストに移植したところキメラマウスが形成されたことから、G418で選択された細胞は確かにES細胞としての性質を有するES様細胞であることが明らかとなった (図1)。これらの細胞をフローサイトメトリー (FACS) で解析したところ、大きさ (Forward scatter) は約2倍となり、DNA量も4倍体となっていた (図2)。以上のことから、これらのコロニーはECAT3 $\beta$  geo/ $\beta$  geoマウス由来のリンパ球と正常ES細胞との融合により、リンパ球核の初期化 (ES細胞化) が起こったためにG418耐性になったことが分かった。このようにECAT3 $\beta$  geo/ $\beta$  geoマウス由来の体細胞は、ES様細胞に変換された時の薬剤耐性となる。従ってこの性質を利用すれば、ES様細胞の選択や、ES様細胞への変換を誘導する核初期化因子を容易にスクリーニングできることが明らかとなった。

#### 【実施例2】

##### 【0111】

##### ECAT5遺伝子を利用したES類似細胞の選択システム

ECAT5遺伝子のコーディング領域を $\beta$  geoに置き換えたホモ変異ノックインマウス (ECAT5 $\beta$  geo/ $\beta$  geoマウス) を文献 (Takahashi, K., K. Mitsui, and S. Yamanaka, Nature, 423(6939): p541-545 (2003)、特開2003-265166号公報) 記載の方法に基づき作製した。このECAT5 $\beta$  geo/ $\beta$  geoマウス由来のリンパ球を用いて、上記と同様のプロトコールで実験を行った。ECAT5 $\beta$  geo/ $\beta$  geoマウス $2 \times 10^6$  個のリンパ球を $4 \times 10^5$  個のES細胞と融合し、G418で選択培養したところ、実施例1で行ったECAT3の場合よりは数が少ないものの、同様のES細胞様コロニーが得られた。よってECAT5も同様にES様細胞の選択システムに利用できることが分かった。

##### 【0112】

なおECAT3の場合よりもコロニー数が少なかった理由としては、ES細胞に極めて特異的に発現するという観点からは両者は同じであるものの、ECAT3はES細胞の維持や増殖にとって必須ではないのに対し、ECAT5はES細胞の増殖を促進する因子であるため、その遺伝子量の減少 (ノックアウト) はES細胞化にとって不利になっていることが考えられた。

#### 【実施例3】

##### 【0113】

##### ECAT2遺伝子を利用したES類似細胞の選択システム

ECAT2遺伝子がES細胞で特異的に発現することは、既にノザンプロット解析により明らかになっている (WO 02/097090 号公報参照)。さらに詳細な発現解析をRT-PCRにより行ったところ、未分化ES細胞での特異的な発現が確認された (図3)。またサイクル数を増やすことにより精巣、および卵巣でも発現するが体組織では全く発現が認められなかつた (図3)。

##### 【0114】

マウスECAT2ゲノム配列を、公的データベースであるMouse Genome Resources (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/mouse/>) により同定した。このECAT2ゲノムを含有す

るBACクローンをPCRとサザンハイブリダイゼーションによりクローニングした。

ECAT2遺伝子をノックアウトするためにエクソン1～3を $\beta$ geo（ $\beta$ ガラクトシダーゼとネオマイシン耐性遺伝子の融合遺伝子）またはHygro（ハイグロマイシン耐性遺伝子）と置換するためのターゲッティングベクターを作製した。すなわち、マウスECAT2遺伝子のエクソン1～3をIRES (internal ribosome entry site)- $\beta$ geoカセット若しくはIRES-Hygroカセットで置換するようにデザインしたターゲッティングベクターを作製した。

#### 【0115】

具体的にはまず、マウスECAT2ゲノムの5' flanking領域～エクソン1の領域を含有するフラグメントと、エクソン3～3' flanking領域を含有するフラグメントを、それぞれ前記BACクローンを鋳型としたPCRにより増幅し、これらをそれぞれターゲッティングベクターの5'-アームおよび3'-アームとした。5'-アームはプライマー(CCGCGGAAAGTCAAGAGATTGGGT GG (配列番号：47)、GCGGCCGCCTTACGGGTACCGAGGGTCAC (配列番号：48))により増幅し、3'-アームはプライマー(TGTGGCCAGTGTTGGTCTGGCGGG (配列番号：49)、CTCGAGGACTCGC CATTCTAGCCAAG (配列番号：50))により増幅した。得られた2つの増幅断片をpBSSK(-)-IRES- $\beta$ geoまたはpBSSK(-)-IRES-Hygroの IRES- $\beta$ geoカセット若しくはIRES-Hygroカセットにライゲーションすることによりターゲッティングベクターを完成し、これをSacIIで切断して直鎖化した。

前記ターゲッティングベクターによるECAT2遺伝子破壊の概略を図4に示す。

#### 【0116】

直鎖化したターゲッティングベクターをエレクトロポレーションによりRF8ES細胞 (Meiner, V. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 14041-14046 (1996)) に導入し、各薬剤 ( $\beta$ geoの場合はネオマイシン (G418)、Hygroの場合はハイグロマイシン) により選択した。相同組み換えが正しく起こっていることの確認はサザンプロットにて行った。すなわち、前記ES細胞から抽出したゲノムDNAをPstIで切断後、電気泳動し、ナイロンメンブランへ転写した。これをECAT2遺伝子の3'領域のプローブとハイブリダイゼーションさせた。正常ゲノムからは18kbpのバンド、 $\beta$ geoベクターとの相同組み換えでは13kbpのバンド、そしてHygroベクターとの相同組み換えでは9kbpのバンドが検出される。結果を図5に示す。各薬剤耐性ES細胞において相同組み換えが正しく起こっていることが確認された。

さらにHygroベクターとの相同組み換えES細胞に $\beta$ geoベクターを導入し、ネオマイシンで選択したところ、両者で相同組み換えが起こった、すなわちECAT2遺伝子がホモ変異となつたES細胞を3クローン得ることが出来た。 $\beta$ geoベクターとHygroベクターの両者で正しく相同組み換えが起こっていることは前記と同様のサザンプロットにより確認した(図5)。またノザンプロットにより、これらのクローンはECAT2の発現が消失していることが確認できた(図6)。

#### 【0117】

このホモ変異ES細胞がES細胞としての機能を保持しているかどうかを調べたところ、形態、増殖、分化能すべてが正常であった。以上の結果から、ECAT2はES細胞、精巣、卵巣に特異的に発現するが、ESの維持や初期発生には必須でない因子であることが分かった。従って、ECAT3遺伝子と同様にES細胞の選択に極めて有効に利用できることが明らかとなつた。

次に、 $\beta$ geoとの相同組み換えES細胞をマウス (C57BL/6) のプラストシストにインジェクションすることによりキメラマウスを経てヘテロ変異マウスを樹立した。さらにヘテロ変異マウス同士の交配から、ホモ変異マウスがメンデルの法則に従つて誕生した。このホモ変異マウス由来の体細胞を用いて、実施例1と同様のプロトコールで実験を行うことにより、実施例1と同様にES細胞様コロニーを得ることができる。

#### 【実施例4】

##### 【0118】

##### ECAT3 $\beta$ geo/ $\beta$ geoマウス由来の体細胞を用いた体細胞核初期化物質のスクリーニング

ECAT3 $\beta$ geo/ $\beta$ geoマウスからリンパ球、皮膚細胞などの体細胞を単離する。この体細胞に対して被験物質を添加し、文献 (Meiner, V.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S

A, 93(24): p14041-14046(1996)) に記載のES細胞の培養条件でフィーダー細胞上で細胞培養し、G418 (0.25mg/ml) で選択を行う。G418による選択で生存細胞が認められた場合、ここで用いた被験物質を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。

例えば被験物質としてES細胞由来のcDNAライブラリーを用いる場合は、前記体細胞に対してリポフェクチン法等の公知の手法でcDNAライブラリー由来のcDNAプールをトランスフェクトし、前記手法にてG418で選択を行い、生存細胞の有無を確認する。生存細胞が確認された場合、そのcDNAプールをさらに幾つかのプールに分けて体細胞にトランスフェクトする。この実験を繰り返すことにより、最終的に、ES細胞由来の体細胞核初期化（候補）因子を選択することができる。

#### 【実施例5】

##### 【0119】

###### ECAT2<sup>β geo/β geo</sup>マウス由来の体細胞を用いた体細胞核初期化物質のスクリーニング

ECAT2<sup>β geo/β geo</sup>マウスからリンパ球、皮膚細胞などの体細胞を単離する。この体細胞に対して被験物質を添加し、文献 (Meiner, V.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 93(24): p14041-14046(1996)) に記載のES細胞の培養条件でフィーダー細胞上で細胞培養し、G418 (0.25mg/ml) で選択を行う。G418による選択で生存細胞が認められた場合、ここで用いた被験物質を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。

例えば被験物質としてES細胞由来のcDNAライブラリーを用いる場合は、前記体細胞に対してリポフェクチン法等の公知の手法でcDNAライブラリー由来のcDNAプールをトランスフェクトし、前記手法にてG418で選択を行い、生存細胞の有無を確認する。生存細胞が確認された場合、そのcDNAプールをさらに幾つかのプールに分けて体細胞にトランスフェクトする。この実験を繰り返すことにより、最終的に、ES細胞由来の体細胞核初期化（候補）因子を選択することができる。

#### 【実施例6】

##### 【0120】

###### ECAT2<sup>Hygro/Hygro</sup>・ECAT3<sup>β geo/β geo</sup>ダブルノックインマウス由来の体細胞を用いた体細胞核初期化物質のスクリーニング

ECAT2<sup>Hygro/Hygro</sup>・ECAT3<sup>β geo/β geo</sup>ダブルノックインマウスはECAT2<sup>Hygro/Hygro</sup>マウスとECAT3<sup>β geo/β geo</sup>マウスを交配させることにより得ることができる。このダブルノックインマウスからリンパ球、皮膚細胞などの体細胞を単離する。この体細胞に対して被験物質を添加し、文献 (Meiner, V.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 93(24): p 14041-14046(1996)) に記載のES細胞の培養条件でフィーダー細胞（細胞名）上で細胞培養し、G418 (0.25mg/ml) およびハイグロマイシン (0.1mg/ml) で選択を行う。2つの薬剤による選択で生存細胞が認められた場合、ここで用いた被験物質を、体細胞の核初期化物質の候補物質として選択する。

例えば被験物質としてES細胞由来のcDNAライブラリーを用いる場合は、前記体細胞に対してリポフェクチン法等の公知の手法でcDNAライブラリー由来のcDNAプールをトランスフェクトし、前記手法にて薬剤選択を行い、生存細胞の有無を確認する。生存細胞が確認された場合、そのcDNAプールをさらに幾つかのプールに分けて体細胞にトランスフェクトする。この実験を繰り返すことにより、最終的に、ES細胞由来の体細胞核初期化（候補）因子を選択することができる。

#### 【産業上の利用可能性】

##### 【0121】

本発明により、体細胞核初期化物質の効率的なスクリーニング方法が提供される。核初期化物質は、幹細胞療法を現実化するために極めて重要な物質であり、本発明のスクリーニング方法により、そのような核初期化物質の早期発見が可能となる。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【0122】

【図1】実施例1の概要を示した図である。ECAT3<sup>β geo/β geo</sup>マウスより単離したリンパ球と正常ES細胞とを融合し、G418で選択した結果、Oct3/4およびNanog(ECAT4)陽

性のES様細胞が出現したことを示している。

【図2】ECAT3 $\beta$ geo/ $\beta$ geoマウスより単離したリンパ球と正常ES細胞とを融合し、G418で選択した細胞をフローサイトメトリー（FACS）で解析した結果を示す図である。融合前（図中WT）と比べ、融合細胞（図中Fusion）では、大きさ（FSC）は約2倍となり、DNA量（PI）も4倍体となったことを示している。

【図3】ECAT2遺伝子の各種細胞・組織における発現をRT-PCRで解析した結果を示す図である。（A）はRT-PCRによる増幅サイクルを25回繰り返し結果を示し、また（B）は30回繰り返した結果を示す。ESG1はECAT2の結果を、NAT1はポジティブコントロールであるNAT1の結果を指す。各レーンは以下の細胞・組織におけるECAT2またはNAT1の発現を示す：レーン1：未分化MG1.19細胞、レーン2：分化MG1.19細胞、レーン3：RT-MG1.19細胞、レーン4：未分化RF-8細胞、レーン5：分化RF-8細胞、レーン6：RT-RF-8細胞、レーン7：脳、レーン8：心臓、レーン9：腎臓、レーン10：精巣、レーン11：脾臓、レーン12：筋肉、レーン13：肺、レーン14：胃、レーン15：卵巣、レーン16：胸腺、レーン17：肝臓、レーン18：皮膚、レーン19：小腸。

【図4】ECAT2遺伝子を $\beta$ geo（ $\beta$ ガラクトシダーゼとネオマイシン耐性遺伝子の融合遺伝子）またはHygro（ハイグロマイシン耐性遺伝子）でノックインするためのターゲッティングベクターと、それを用いたECAT2遺伝子破壊の概念を示した図である。

【図5】ターゲッティングベクターをES細胞に導入して得られた薬剤耐性細胞において、相同組み換えが正しく起こっていることを確認したサザンブロット解析の図である。図中、WTはベクター導入のないES細胞の結果を示す。また図中、-/-（レーンNo. 27、35、36）は $\beta$ geoベクターとHygroベクターの両者で相同組換えを起こしたECAT2遺伝子ホモ変異ES細胞の結果を、 $\beta$ -geo +/-（レーンNo. 78、30、32、33）は $\beta$ geoベクターで相同組換えを起こしたECAT2遺伝子ヘテロ変異ES細胞の結果を、またhygro +/-（レーン4、7、31、34）はHygroベクターで相同組換えを起こしたECAT2遺伝子ヘテロ変異ES細胞の結果を、それぞれ示す。

【図6】 $\beta$ geoベクターとHygroベクターの両者で相同組換えを起こしたECAT2遺伝子ホモ変異ES細胞において、ECAT2遺伝子の発現が消失していることを確認したノザンブロット解析の図である。図中、各レーンの説明は図4と同じである。上図はノザンブロット解析の結果を示すオートラジオグラムであり、下図はリボゾーマルRNAをエチジウムプロマイド染色した写真を示す。

#### 【配列表フリー テキスト】

##### 【0123】

- 配列番号：39に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：40に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：41に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：42に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：43に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：44に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：45に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：46に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：47に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：48に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：49に記載の塩基配列はプライマーである。
- 配列番号：50に記載の塩基配列はプライマーである。

## 【配列表】

## SEQUENCE LISTING

<110> Yamanaka, Shinya  
Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd.

<120> Screening method for substances which induce  
nuclear reprogramming of somatic cells

<130> 133231

<140>

<141>

<160> 50

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1623

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (50)..(1369)

<400> 1

tgactgatct tgagttgca taggcttcct gcgggtgaaac gggtacact atg gcc tct 58  
Met Ala Ser  
1

ctg aag agg ttt cag acg ctc gtg ccc ctg gat cac aaa caa ggt acc 106  
Leu Lys Arg Phe Gln Thr Leu Val Pro Leu Asp His Lys Gln Gly Thr  
5 10 15

tta ttt gaa att att gga gag ccc aag ttg ccc aag tgg ttc cat gtc 154  
Leu Phe Glu Ile Ile Gly Glu Pro Lys Leu Pro Lys Trp Phe His Val  
20 25 30 35

gaa tgc ctg gaa gat cca aaa aga ctg tac gtg gaa cct cgg cta ctg 202  
Glu Cys Leu Glu Asp Pro Lys Arg Leu Tyr Val Glu Pro Arg Leu Leu  
40 45 50

gaa atc atg ttt ggt aag gat gga gag cac atc cca cat ctt gaa tct 250  
Glu Ile Met Phe Gly Lys Asp Gly Glu His Ile Pro His Leu Glu Ser  
55 60 65

atg ttg cac acc ctg ata cat gtg aac gtg tgg ggc cct gaa agg cga 298  
Met Leu His Thr Leu Ile His Val Asn Val Trp Gly Pro Glu Arg Arg

70	75	80	
gct gag att tgg ata ttc gga ccg ccg cct ttc cga agg gac gtt gac Ala Glu Ile Trp Ile Phe Gly Pro Pro Pro Phe Arg Arg Asp Val Asp			346
85	90	95	
cgg atg ctc act gat ctg gct cac tat tgc cgc atg aaa ctg atg gaa Arg Met Leu Thr Asp Leu Ala His Tyr Cys Arg Met Lys Leu Met Glu			394
100	105	110	115
ata gag gct ctg gag gct gga gtt gag cgt cgt atg gcg gcc cat Ile Glu Ala Leu Glu Ala Gly Val Glu Arg Arg Arg Met Ala Ala His			442
120	125	130	
aag gct gcc acc cag cct gct ccc gtg aag gtc cgc gag gct gcc cct Lys Ala Ala Thr Gln Pro Ala Pro Val Lys Val Arg Glu Ala Ala Pro			490
135	140	145	
cgg ccc gct tcc gtg aag gtc cct gag acg gcc acc cag cct gct ccc Arg Pro Ala Ser Val Lys Val Pro Glu Thr Ala Thr Gln Pro Ala Pro			538
150	155	160	
gtg aag gtc cgc gag gct gcc cct cag ccc gct ccg gtg cag gag gtc Val Lys Val Arg Glu Ala Ala Pro Gln Pro Ala Pro Val Gln Glu Val			586
165	170	175	
cgc gag gct gcc cct cag cag gct tcc gtg cag gag gag gtc cgc gag Arg Glu Ala Ala Pro Gln Gln Ala Ser Val Gln Glu Glu Val Arg Glu			634
180	185	190	195
gct gcc acc gag cag gct ccc gtg cag gag gtc cgc gag gct gcc acc Ala Ala Thr Glu Gln Ala Pro Val Gln Glu Val Arg Glu Ala Ala Thr			682
200	205	210	
gag cag gct ccc gtg cag gag gtc agc gag gct gcc acc gag cag gct Glu Gln Ala Pro Val Gln Glu Val Ser Glu Ala Ala Thr Glu Gln Ala			730
215	220	225	
ccc gtg cag gag gtc aac gag gct gcc acc gag cag gct tcc gtg cag Pro Val Gln Glu Val Asn Glu Ala Ala Thr Glu Gln Ala Ser Val Gln			778
230	235	240	
gcg gtc cgc gag gct gcc acc cgg ccg gct ccc ggg aag gtc cgc aag Ala Val Arg Glu Ala Ala Thr Arg Pro Ala Pro Gly Lys Val Arg Lys			826
245	250	255	
gcg gcc acc cag ccg gct ccg gtg cag gtt tgc cag gag gcc acc cag Ala Ala Thr Gln Pro Ala Pro Val Gln Val Cys Gln Glu Ala Thr Gln			874
260	265	270	275

ttg gct ccc gtg aag gtc cgc gag gcg gcc acc cag ccg gct tcc ggg Leu Ala Pro Val Lys Val Arg Glu Ala Ala Thr Gln Pro Ala Ser Gly 280 285 290	922
aag gtc cgc gag gcg gcc acc cag ttg gct cct gtg aag gtc cgc aag Lys Val Arg Glu Ala Ala Thr Gln Leu Ala Pro Val Lys Val Arg Lys 295 300 305	970
gca gcc acc cag ttg gct cct gtg aag gtc cac gag gcg gcc acc cag Ala Ala Thr Gln Leu Ala Pro Val Lys Val His Glu Ala Ala Thr Gln 310 315 320	1018
ccg gct ccg ggg aag gtc agc gat gct gcc acg cag tcg gct tcg gtg Pro Ala Pro Gly Lys Val Ser Asp Ala Ala Thr Gln Ser Ala Ser Val 325 330 335	1066
cag gtt cgt gag gct gcc acg cag ctg tct ccc gtg gag gcc act gat Gln Val Arg Glu Ala Ala Thr Gln Leu Ser Pro Val Glu Ala Thr Asp 340 345 350 355	1114
act agc cag ttg gct cag gtg aag gct gat gaa gcc ttt gcc cag cac Thr Ser Gln Leu Ala Gln Val Lys Ala Asp Glu Ala Phe Ala Gln His 360 365 370	1162
act tca ggg gag gcc cac cag gtt gcc aat ggg cag tct ccc att gaa Thr Ser Gly Glu Ala His Gln Val Ala Asn Gly Gln Ser Pro Ile Glu 375 380 385	1210
gtc tgt gag act gcc acc ggg cag cat tct cta gat gtc tct agg gcc Val Cys Glu Thr Ala Thr Gly Gln His Ser Leu Asp Val Ser Arg Ala 390 395 400	1258
ttg tcc cag aag tgt cct gag gtt ttt gag tgg gag acc cag agt tgt Leu Ser Gln Lys Cys Pro Glu Val Phe Glu Trp Glu Thr Gln Ser Cys 405 410 415	1306
ttg gat ggc agc tat gtc ata gtt cag cct cca agg gat gcc tgg gaa Leu Asp Gly Ser Tyr Val Ile Val Gln Pro Pro Arg Asp Ala Trp Glu 420 425 430 435	1354
tca ttt atc ata tta taaatgcac tctgggtgtga gccaggatag atggcacacg Ser Phe Ile Ile Leu 440	1409
tctgcaaatc cagaacctaa aggcaagggt tagcttgggc tgagtaaggc aatgatctta aacctcagcc tgcctaagac tcccttcac tttcttctg gttttgcc taggaatcgg	1469 1529
gaagaacaga gtagagctgt tttgtttcc ccattgtgtt aaatgttgc agacacaatt	1589

taaagtattc taataaaaaaa aaaattgcat tccc 1623

<210> 2  
<211> 440  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 2			
Met Ala Ser Leu Lys Arg Phe Gln Thr Leu Val Pro Leu Asp His Lys			
1	5	10	15
Gln Gly Thr Leu Phe Glu Ile Ile Gly Glu Pro Lys Leu Pro Lys Trp			
20	25	30	
Phe His Val Glu Cys Leu Glu Asp Pro Lys Arg Leu Tyr Val Glu Pro			
35	40	45	
Arg Leu Leu Glu Ile Met Phe Gly Lys Asp Gly Glu His Ile Pro His			
50	55	60	
Leu Glu Ser Met Leu His Thr Leu Ile His Val Asn Val Trp Gly Pro			
65	70	75	80
Glu Arg Arg Ala Glu Ile Trp Ile Phe Gly Pro Pro Pro Phe Arg Arg			
85	90	95	
Asp Val Asp Arg Met Leu Thr Asp Leu Ala His Tyr Cys Arg Met Lys			
100	105	110	
Leu Met Glu Ile Glu Ala Leu Glu Ala Gly Val Glu Arg Arg Arg Met			
115	120	125	
Ala Ala His Lys Ala Ala Thr Gln Pro Ala Pro Val Lys Val Arg Glu			
130	135	140	
Ala Ala Pro Arg Pro Ala Ser Val Lys Val Pro Glu Thr Ala Thr Gln			
145	150	155	160
Pro Ala Pro Val Lys Val Arg Glu Ala Ala Pro Gln Pro Ala Pro Val			
165	170	175	
Gln Glu Val Arg Glu Ala Ala Pro Gln Gln Ala Ser Val Gln Glu Glu			
180	185	190	
Val Arg Glu Ala Ala Thr Glu Gln Ala Pro Val Gln Glu Val Arg Glu			
195	200	205	
Ala Ala Thr Glu Gln Ala Pro Val Gln Glu Val Ser Glu Ala Ala Thr			
210	215	220	

Glu Gln Ala Pro Val Gln Glu Val Asn Glu Ala Ala Thr Glu Gln Ala  
 225 230 235 240  
 Ser Val Gln Ala Val Arg Glu Ala Ala Thr Arg Pro Ala Pro Gly Lys  
 245 250 255  
 Val Arg Lys Ala Ala Thr Gln Pro Ala Pro Val Gln Val Cys Gln Glu  
 260 265 270  
 Ala Thr Gln Leu Ala Pro Val Lys Val Arg Glu Ala Ala Thr Gln Pro  
 275 280 285  
 Ala Ser Gly Lys Val Arg Glu Ala Ala Thr Gln Leu Ala Pro Val Lys  
 290 295 300  
 Val Arg Lys Ala Ala Thr Gln Leu Ala Pro Val Lys Val His Glu Ala  
 305 310 315 320  
 Ala Thr Gln Pro Ala Pro Gly Lys Val Ser Asp Ala Ala Thr Gln Ser  
 325 330 335  
 Ala Ser Val Gln Val Arg Glu Ala Ala Thr Gln Leu Ser Pro Val Glu  
 340 345 350  
 Ala Thr Asp Thr Ser Gln Leu Ala Gln Val Lys Ala Asp Glu Ala Phe  
 355 360 365  
 Ala Gln His Thr Ser Gly Glu Ala His Gln Val Ala Asn Gly Gln Ser  
 370 375 380  
 Pro Ile Glu Val Cys Glu Thr Ala Thr Gly Gln His Ser Leu Asp Val  
 385 390 395 400  
 Ser Arg Ala Leu Ser Gln Lys Cys Pro Glu Val Phe Glu Trp Glu Thr  
 405 410 415  
 Gln Ser Cys Leu Asp Gly Ser Tyr Val Ile Val Gln Pro Pro Arg Asp  
 420 425 430  
 Ala Trp Glu Ser Phe Ile Ile Leu  
 435 440

<210> 3  
 <211> 1063  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (54) .. (704)

<400> 3

tcggccttg ggtttgctgt ggtgtccttg ttcctgcag gaccggccgc agc atg 56  
Met 1

gac gct ccc agg cggtttccg acg ctc gtg caa ctg atg cag cca aaa 104  
Asp Ala Pro Arg Arg Phe Pro Thr Leu Val Gln Leu Met Gln Pro Lys  
5 10 15

gca atg cca gtg gag gtg ctc ggt cac ctc cct aag cg<sup>g</sup> ttc tcc tgg 152  
Ala Met Pro Val Glu Val Leu Gly His Leu Pro Lys Arg Phe Ser Trp  
20 25 30

ttc cac tct gag ttc ctg aag aat ccg aag gta gtt cgc ctt gag gtt 200  
Phe His Ser Glu Phe Leu Lys Asn Pro Lys Val Val Arg Leu Glu Val  
35 40 45

tgg ctg gtg gaa aag atc ttc ggc cg <sup>55</sup> ggc gga gaa cgc atc ccg cac	248	
Trp Leu Val Glu Lys Ile Phe Gly Arg Gly Glu Arg Ile Pro His		
50	60	65

gtc cag ggt atg tcc caa atc ttg att cac gtg aat cga ttg gac cct 296  
 Val Gln Gly Met Ser Gln Ile Leu Ile His Val Asn Arg Leu Asp Pro  
                  70                 75                 80

aac ggc gag gct gag atc ttg gta ttt ggg agg cct tct tac cag gag	344	
Asn Gly Glu Ala Glu Ile Leu Val Phe Gly Arg Pro Ser Tyr Gln Glu		
85	90	95

gac aca atc aag atg atc atg aac ctg gct gac tat cac cgc cag ctc 392  
 Asp Thr Ile Lys Met Ile Met Asn Leu Ala Asp Tyr His Arg Gln Leu  
                  100                 105                 110

cag gcg aaa ggc tca gga aag gcc ctc gcc cag gat gtc gcc act cag 440  
Gln Ala Lys Gly Ser Gly Lys Ala Leu Ala Gln Asp Val Ala Thr Gln  
115 120 125

aag	gcc	gag	acc	cag	cgg	tct	tca	ata	gaa	gtc	cgg	gag	gcc	ggg	acg	488
Lys	Ala	Glu	Thr	Gln	Arg	Ser	Ser	Ile	Glu	Val	Arg	Glu	Ala	Gly	Thr	
130						135					140					145

cag cgt tcg gtg gag gtc cg<sup>g</sup> gag gcc ggg acc cag cgt tcg gtg gaa 536  
 Gln Arg Ser Val Glu Val Arg Glu Ala Gly Thr Gln Arg Ser Val Glu  
 150 155 160

gtc cag gag gtc ggg aca cag ggt tct ccg gtg gag gtg cag gag gcc 584

Val Gln Glu Val Gly Thr Gln Gly Ser Pro Val Glu Val Gln Glu Ala  
165 170 175

ggg acc cag cag tct ctc cag gct gcc aac aag tcg ggg acc cag cga 632  
Gly Thr Gln Gln Ser Leu Gln Ala Ala Asn Lys Ser Gly Thr Gln Arg  
180 185 190

tcc ccc gaa gct gcc agc aag gca gtg acc cag cggtt cgc gag gat 680  
Ser Pro Glu Ala Ala Ser Lys Ala Val Thr Gln Arg Phe Arg Glu Asp  
195 200 205

gcc cggtt gac cca gtt act aga tta tgaaggcatc tcaggccctg gagccagagc 734  
Ala Arg Asp Pro Val Thr Arg Leu  
210 215

cagtcagggg tttaagtcaa agcccgattt tccgcccaga agctggggtt ggggagagga 794

tgtggatttt ttgtttacc cttctgttg catggttgca aacacaaact tgagttctaa 854

taaagaattt caaatggaa gccccccccccc cccctcccccc ccgcctccct taagtccagg 914

aagctgggtt ggccggaaag gatgtatgtgg attgttttg ttttaccctt tttgttgaat 974

ggttgccaac ccaaacttga gtttaataaa ataattgcct ttccaaaaaaa aaaaaaaaaa 1034

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1063

<210> 4

<211> 217

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Asp Ala Pro Arg Arg Phe Pro Thr Leu Val Gln Leu Met Gln Pro  
1 5 10 15

Lys Ala Met Pro Val Glu Val Leu Gly His Leu Pro Lys Arg Phe Ser  
20 25 30

Trp Phe His Ser Glu Phe Leu Lys Asn Pro Lys Val Val Arg Leu Glu  
35 40 45

Val Trp Leu Val Glu Lys Ile Phe Gly Arg Gly Glu Arg Ile Pro  
50 55 60

His Val Gln Gly Met Ser Gln Ile Leu Ile His Val Asn Arg Leu Asp  
65 70 75 80

Pro Asn Gly Glu Ala Glu Ile Leu Val Phe Gly Arg Pro Ser Tyr Gln

85

90

95

Glu Asp Thr Ile Lys Met Ile Met Asn Leu Ala Asp Tyr His Arg Gln  
 100 105 110

Leu Gln Ala Lys Gly Ser Gly Lys Ala Leu Ala Gln Asp Val Ala Thr  
 115 120 125

Gln Lys Ala Glu Thr Gln Arg Ser Ser Ile Glu Val Arg Glu Ala Gly  
 130 135 140

Thr Gln Arg Ser Val Glu Val Arg Glu Ala Gly Thr Gln Arg Ser Val  
 145 150 155 160

Glu Val Gln Glu Val Gly Thr Gln Gly Ser Pro Val Glu Val Gln Glu  
 165 170 175

Ala Gly Thr Gln Gln Ser Leu Gln Ala Ala Asn Lys Ser Gly Thr Gln  
 180 185 190

Arg Ser Pro Glu Ala Ala Ser Lys Ala Val Thr Gln Arg Phe Arg Glu  
 195 200 205

Asp Ala Arg Asp Pro Val Thr Arg Leu  
 210 215

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 591

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (59)..(412)

&lt;400&gt; 5

gccgtgcgtg gtggataagc ttgatctcg tttccctgaa gtctggttcc ttggcagg 58

atg atg gtg acc ctc gtg acc cgt aaa gat atc ccc ccg tgg gtg aaa 106  
 Met Met Val Thr Leu Val Thr Arg Lys Asp Ile Pro Pro Trp Val Lys  
 1 5 10 15

gtt cct gaa gac ctg aaa gat cca gaa gta ttc cag gtc cag tcg ctg 154  
 Val Pro Glu Asp Leu Lys Asp Pro Glu Val Phe Gln Val Gln Ser Leu  
 20 25 30

gtg ctg aaa tat ctg ttt ggc cca cag gga tct cga atg tct cac atc 202  
 Val Leu Lys Tyr Leu Phe Gly Pro Gln Gly Ser Arg Met Ser His Ile

35	40	45	
gag cag gtg agc cag gcc atg ttt gag ctg aag aac ctg gaa tct ccc Glu Gln Val Ser Gln Ala Met Phe Glu Leu Lys Asn Leu Glu Ser Pro			250
50	55	60	
gaa gaa ctt atc gag gtc ttc att tac ggc tct caa aac aac aag att Glu Glu Leu Ile Glu Val Phe Ile Tyr Gly Ser Gln Asn Asn Lys Ile			298
65	70	75	80
cgg gct aaa tgg atg ctt cag tcc atg gct gag agg tac cac ctg cgc Arg Ala Lys Trp Met Leu Gln Ser Met Ala Glu Arg Tyr His Leu Arg			346
85	90	95	
cag caa aaa gga gtg ctg aag ctg gag gaa tcc atg aag acc ctg gag Gln Gln Lys Gly Val Leu Lys Leu Glu Glu Ser Met Lys Thr Leu Glu			394
100	105	110	
cta ggc cag tgt atc gag tgaagccagt ttccagtcct tgtgtctccg Leu Gly Gln Cys Ile Glu			442
115			
acctggatgc aggttaagct gtggccagtg tttggttctg gcgggatttt tagcttggtt			502
acatccttagc aagatattct ggatccctgc tgcgattct gatgtgaatc ccaaggttac			562
cactctaaat aaaaaataaa attgaagtg			591

<210> 6  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 6			
Met Met Val Thr Leu Val Thr Arg Lys Asp Ile Pro Pro Trp Val Lys			
1	5	10	15
Val Pro Glu Asp Leu Lys Asp Pro Glu Val Phe Gln Val Gln Ser Leu			
20	25	30	
Val Leu Lys Tyr Leu Phe Gly Pro Gln Gly Ser Arg Met Ser His Ile			
35	40	45	
Glu Gln Val Ser Gln Ala Met Phe Glu Leu Lys Asn Leu Glu Ser Pro			
50	55	60	
Glu Glu Leu Ile Glu Val Phe Ile Tyr Gly Ser Gln Asn Asn Lys Ile			
65	70	75	80

Arg Ala Lys Trp Met Leu Gln Ser Met Ala Glu Arg Tyr His Leu Arg  
85 90 95

Gln Gln Lys Gly Val Leu Lys Leu Glu Glu Ser Met Lys Thr Leu Glu  
100 105 110

Leu Gly Gln Cys Ile Glu  
115

<210> 7

<211> 640

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (15)..(362)

<400> 7

ggcacgagga taag atg gga act ctc ccg gca cgt aga cat atc ccg ccg 50  
Met Gly Thr Leu Pro Ala Arg Arg His Ile Pro Pro  
1 5 10

tgg gtg aaa gtt ccc gaa gac ctg aaa gat cca gag gtg ttc cag gtc 98  
Trp Val Lys Val Pro Glu Asp Leu Lys Asp Pro Glu Val Phe Gln Val  
15 20 25

cag acg cggtctgaaa gcc att ttc ggc ccg gac gga tct cga atc 146  
Gln Thr Arg Leu Leu Lys Ala Ile Phe Gly Pro Asp Gly Ser Arg Ile  
30 35 40

cct tac atc gag cag gtg agc aag gcc atg ctc gag ctg aag gct ctg 194  
Pro Tyr Ile Glu Gln Val Ser Lys Ala Met Leu Glu Leu Lys Ala Leu  
45 50 55 60

gag tct tca gac ctc acc gag gtc gtg gtt tac ggc tcc tat ttg tac 242  
Glu Ser Ser Asp Leu Thr Glu Val Val Val Tyr Gly Ser Tyr Leu Tyr  
65 70 75

aag ctc cgacc aag tgg atg ctc cag tcc atg gct gag tgg cac cgc 290  
Lys Leu Arg Thr Lys Trp Met Leu Gln Ser Met Ala Glu Trp His Arg  
80 85 90

cag cgc cag gag cga ggg atg ctc aaa ctt gcc gaa gcc atg aat gcc 338  
Gln Arg Gln Glu Arg Gly Met Leu Lys Leu Ala Glu Ala Met Asn Ala  
95 100 105

ctc gaa cta ggc cct tgg atg aag tgaaccagtt tccagccaat gcaatgaagc 392

Leu Glu Leu Gly Pro Trp Met Lys  
110 115

cgggttgcag agatttagtt gtggccagag ctagagtat tccttaagct tgtttaaaa 452  
tctgctccag cctaaagagt taaggaaaaa ccatttggtc ccttaaagag ttaaggaaaa 512  
acccttggct ctgagtcttg ttgtgaatat ttcttgatg attgttaata aaaagtgttt 572  
tttctttttt cccattttta aaaataacaa taaagttta aataagttga taaaaaaaaa 632  
aaaaaaaaa 640

<210> 8  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 8  
Met Gly Thr Leu Pro Ala Arg Arg His Ile Pro Pro Trp Val Lys Val  
1 5 10 15

Pro Glu Asp Leu Lys Asp Pro Glu Val Phe Gln Val Gln Thr Arg Leu  
20 25 30

Leu Lys Ala Ile Phe Gly Pro Asp Gly Ser Arg Ile Pro Tyr Ile Glu  
35 40 45

Gln Val Ser Lys Ala Met Leu Glu Leu Lys Ala Leu Glu Ser Ser Asp  
50 55 60

Leu Thr Glu Val Val Val Tyr Gly Ser Tyr Leu Tyr Lys Leu Arg Thr  
65 70 75 80

Lys Trp Met Leu Gln Ser Met Ala Glu Trp His Arg Gln Arg Gln Glu  
85 90 95

Arg Gly Met Leu Lys Leu Ala Glu Ala Met Asn Ala Leu Glu Leu Gly  
100 105 110

Pro Trp Met Lys  
115

<210> 9  
<211> 1670  
<212> DNA  
<213> Mus musculus

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (134)..(1567)

&lt;400&gt; 9

acttgcctgt ccaagatctg ttgaaatctg cttctacaga agaccagctg aaacaaatag 60

cttcgtggga ctgagcacaa ctactagatt ctggacttc cgttcacagc tgccaaattgt 120

tgggagtaca ata atg gag gag tcg gaa ttg gag att ttt aga agt aag 169  
Met Glu Glu Ser Glu Leu Glu Ile Phe Arg Ser Lys

1 5 10

ttt gtt aga ggc tca tct gtc acg aag cag cat gcc tgg cga aac cag 217  
Phe Val Arg Gly Ser Ser Val Thr Lys Gln His Ala Trp Arg Asn Gln  
15 20 25cac agc gag aag cgt tgc tct tcc atc agt tct ata tcc ctg gac 265  
His Ser Glu Lys Arg Cys Ser Ser Ile Ser Ser Ile Ser Leu Asp  
30 35 40aga atg cca tcg gaa atc ttg gtg aag ata ctt tct tac ttg gat gcg 313  
Arg Met Pro Ser Glu Ile Leu Val Lys Ile Leu Ser Tyr Leu Asp Ala  
45 50 55 60gtg acc ttg gtg tgc att gga tgt gtg agc aga cgc ttt tat cat ttg 361  
Val Thr Leu Val Cys Ile Gly Cys Val Ser Arg Arg Phe Tyr His Leu  
65 70 75gct gat gac aat ctt att tgg gtc agg aag tac gca gct gca ttt aga 409  
Ala Asp Asp Asn Leu Ile Trp Val Arg Lys Tyr Ala Ala Ala Phe Arg  
80 85 90tca aaa aga tca cgt tgg aaa gct act tca gtg gag gaa aca gcc aca 457  
Ser Lys Arg Ser Arg Trp Lys Ala Thr Ser Val Glu Glu Thr Ala Thr  
95 100 105agt ctg agc ttg ctg tca gtt tgg gat aaa gaa gat gga tac tgg aag 505  
Ser Leu Ser Leu Ser Val Trp Asp Lys Glu Asp Gly Tyr Trp Lys  
110 115 120aaa gaa tat att aca aag cag atc tca tct gtg aga gca gcc ctc acc 553  
Lys Glu Tyr Ile Thr Lys Gln Ile Ser Ser Val Arg Ala Ala Leu Thr  
125 130 135 140aac agc ctc agt cct gtc aaa cgc cgc aca agc ctt cct tcg aaa acc 601  
Asn Ser Leu Ser Pro Val Lys Arg Arg Thr Ser Leu Pro Ser Lys Thr  
145 150 155

aaa gag tcc ctc aga ata tct ggc tta ggt tgg aca atc atc tta aga Lys Glu Ser Leu Arg Ile Ser Gly Leu Gly Trp Thr Ile Ile Leu Arg 160 165 170	649
gaa gcc agt ggc aaa gaa cac atc atg cag cat tcg aat ctt tcc gta Glu Ala Ser Gly Lys Glu His Ile Met Gln His Ser Asn Leu Ser Val 175 180 185	697
aat gac aac tct gtc act gtt ttt tgg cat gac aaa aat tgg cca cat Asn Asp Asn Ser Val Thr Val Phe Trp His Asp Lys Asn Trp Pro His 190 195 200	745
gta gac acg ttg tcc acc ctg gat ttg tat ggt gcc aca cca att ttt Val Asp Thr Leu Ser Thr Leu Asp Leu Tyr Gly Ala Thr Pro Ile Phe 205 210 215 220	793
atg gag cag tat aaa ggc cct aac aca agt tgt cca cga tgg ctg tct Met Glu Gln Tyr Lys Gly Pro Asn Thr Ser Cys Pro Arg Trp Leu Ser 225 230 235	841
tta att gaa aag tac gat ctg agt aat tta cgc aag tct gct atg att Leu Ile Glu Lys Tyr Asp Leu Ser Asn Leu Arg Lys Ser Ala Met Ile 240 245 250	889
ggc tgc gac aga cat gtt cgg gta ttc tgt gta aat cct ggc ctc ctg Gly Cys Asp Arg His Val Arg Val Phe Cys Val Asn Pro Gly Leu Leu 255 260 265	937
gtg ggg ctg tgg cag gag aat ggt gga cta gct ttt gtc atg gca aat Val Gly Leu Trp Gln Glu Asn Gly Gly Leu Ala Phe Val Met Ala Asn 270 275 280	985
att cat tcc cat ggc ctt ttc gag aga agc ata atg ggc tca gac act Ile His Ser His Gly Leu Phe Glu Arg Ser Ile Met Gly Ser Asp Thr 285 290 295 300	1033
att ccc tat aca ttg cct ccc gac act aca ttt gtg gat aac tac cca Ile Pro Tyr Thr Leu Pro Pro Asp Thr Thr Phe Val Asp Asn Tyr Pro 305 310 315	1081
gac tca atg acc ttt tat gga gat aaa ggc ttt cag ctg cat atc gac Asp Ser Met Thr Phe Tyr Gly Asp Lys Gly Phe Gln Leu His Ile Asp 320 325 330	1129
att cat ggc agt aag act tac ttc ctg tgt agc acc ttc cac aat ctc Ile His Gly Ser Lys Thr Tyr Phe Leu Cys Ser Thr Phe His Asn Leu 335 340 345	1177
ttc tgc agg aga gcg ggc att aac aat gga tat gtg aag ttc ttg atg Phe Cys Arg Arg Ala Gly Ile Asn Asn Gly Tyr Val Lys Phe Leu Met	1225

350	355	360	
ata aac tta aaa aat aac aga gaa cac cta cct ctt gtt gga aaa gtt Ile Asn Leu Lys Asn Asn Arg Glu His Leu Pro Leu Val Gly Lys Val			1273
365	370	375	380
ggc ctt gaa tgg aga act gac tgt tta aat ggc cgt att gag agt tgc Gly Leu Glu Trp Arg Thr Asp Cys Leu Asn Gly Arg Ile Glu Ser Cys			1321
385	390		395
att gta gtg gat atg acc ttg ctg gat gag gac aag aag ccc atc tgg Ile Val Val Asp Met Thr Leu Leu Asp Glu Asp Lys Lys Pro Ile Trp	400	405	410
Tyr Val Ser Ser Pro Val Cys Leu Arg Ser Ala Cys Leu Pro Asp Phe	415	420	425
ccg cag ccg gct tac tct ttc gag tac atg gac agc gta gga gga gtg Pro Gln Pro Ala Tyr Ser Phe Glu Tyr Met Asp Ser Val Gly Gly Val	430	435	440
tgc gca gac cta ggg tgg ttt gaa aat acc gat gaa tac ttc att gtc Cys Ala Asp Leu Gly Trp Phe Glu Asn Thr Asp Glu Tyr Phe Ile Val	445	450	460
455	455		460
aga ctg gac att tac ctc agt gta gca aaa tta caa caa tgg ttt ggg Arg Leu Asp Ile Tyr Leu Ser Val Ala Lys Leu Gln Gln Trp Phe Gly	465	470	475
475			
agg caa taaatgctga gtttagcagta gggagtcttg ttatttagtaa gctgtttgtt Arg Gln			1617
ttttacaact ttgttttat tgaaagttaa aataaagcat atttgtggta ttc			1670

<210> 10  
<211> 478  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 10  
Met Glu Glu Ser Glu Leu Glu Ile Phe Arg Ser Lys Phe Val Arg Gly  
1 5 10 15

Ser Ser Val Thr Lys Gln His Ala Trp Arg Asn Gln His Ser Glu Lys  
20 25 30

Arg Cys Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ile Ser Leu Asp Arg Met Pro Ser  
35 40 45

Glu Ile Leu Val Lys Ile Leu Ser Tyr Leu Asp Ala Val Thr Leu Val  
 50 55 60

Cys Ile Gly Cys Val Ser Arg Arg Phe Tyr His Leu Ala Asp Asp Asn  
 65 70 75 80

Leu Ile Trp Val Arg Lys Tyr Ala Ala Ala Phe Arg Ser Lys Arg Ser  
 85 90 95

Arg Trp Lys Ala Thr Ser Val Glu Glu Thr Ala Thr Ser Leu Ser Leu  
 100 105 110

Leu Ser Val Trp Asp Lys Glu Asp Gly Tyr Trp Lys Lys Glu Tyr Ile  
 115 120 125

Thr Lys Gln Ile Ser Ser Val Arg Ala Ala Leu Thr Asn Ser Leu Ser  
 130 135 140

Pro Val Lys Arg Arg Thr Ser Leu Pro Ser Lys Thr Lys Glu Ser Leu  
 145 150 155 160

Arg Ile Ser Gly Leu Gly Trp Thr Ile Ile Leu Arg Glu Ala Ser Gly  
 165 170 175

Lys Glu His Ile Met Gln His Ser Asn Leu Ser Val Asn Asp Asn Ser  
 180 185 190

Val Thr Val Phe Trp His Asp Lys Asn Trp Pro His Val Asp Thr Leu  
 195 200 205

Ser Thr Leu Asp Leu Tyr Gly Ala Thr Pro Ile Phe Met Glu Gln Tyr  
 210 215 220

Lys Gly Pro Asn Thr Ser Cys Pro Arg Trp Leu Ser Leu Ile Glu Lys  
 225 230 235 240

Tyr Asp Leu Ser Asn Leu Arg Lys Ser Ala Met Ile Gly Cys Asp Arg  
 245 250 255

His Val Arg Val Phe Cys Val Asn Pro Gly Leu Leu Val Gly Leu Trp  
 260 265 270

Gln Glu Asn Gly Gly Leu Ala Phe Val Met Ala Asn Ile His Ser His  
 275 280 285

Gly Leu Phe Glu Arg Ser Ile Met Gly Ser Asp Thr Ile Pro Tyr Thr  
 290 295 300

Leu Pro Pro Asp Thr Thr Phe Val Asp Asn Tyr Pro Asp Ser Met Thr

305	310	315	320
	Phe Tyr Gly Asp Lys Gly Phe Gln Leu His Ile Asp Ile His Gly Ser		
	325	330	335
	Lys Thr Tyr Phe Leu Cys Ser Thr Phe His Asn Leu Phe Cys Arg Arg		
	340	345	350
	Ala Gly Ile Asn Asn Gly Tyr Val Lys Phe Leu Met Ile Asn Leu Lys		
	355	360	365
	Asn Asn Arg Glu His Leu Pro Leu Val Gly Lys Val Gly Leu Glu Trp		
	370	375	380
	Arg Thr Asp Cys Leu Asn Gly Arg Ile Glu Ser Cys Ile Val Val Asp		
	385	390	395
	Met Thr Leu Leu Asp Glu Asp Lys Lys Pro Ile Trp Tyr Val Ser Ser		
	405	410	415
	Pro Val Cys Leu Arg Ser Ala Cys Leu Pro Asp Phe Pro Gln Pro Ala		
	420	425	430
	Tyr Ser Phe Glu Tyr Met Asp Ser Val Gly Gly Val Cys Ala Asp Leu		
	435	440	445
	Gly Trp Phe Glu Asn Thr Asp Glu Tyr Phe Ile Val Arg Leu Asp Ile		
	450	455	460
	Tyr Leu Ser Val Ala Lys Leu Gln Gln Trp Phe Gly Arg Gln		
	465	470	475

<210> 11  
 <211> 1665  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (21)..(1550)

<400> 11  
 agggtgaact ccttgtctct atg gcg act gga cgc ggt cgg atc ttg cag cag 53  
 Met Ala Thr Gly Arg Gly Arg Ile Leu Gln Gln  
 1 5 10

cac tgg ctc ggc ctc cag acg ctg cgc ggg ccc agc agg ggc ggt ggc 101  
 His Trp Leu Gly Leu Gln Thr Leu Arg Gly Pro Ser Arg Gly Gly Gly

15	20	25	
gca gtc ggg cgc gcc agg gcc ttt ggg tgc aga aag ggg cca ggg Ala Ala Arg Gly Arg Ala Arg Ala Phe Gly Cys Arg Lys Gly Pro Gly			149
30	35	40	
gtc aag ctt tct gca ggc tct gct gcc ctg agg tgc cat gcc gga ggt Val Lys Leu Ser Ala Gly Ser Ala Ala Leu Arg Cys His Ala Gly Gly			197
45	50	55	
gga cag cac tgg gag agc tct ttc tcc tgc tgt tct ggg ttc ctg gat Gly Gln His Trp Glu Ser Ser Phe Ser Cys Cys Ser Gly Phe Leu Asp			245
60	65	70	75
gga atg cct tca gaa atc ttg ctg aag ata ttt tcc tac ttg gat gct Gly Met Pro Ser Glu Ile Leu Leu Lys Ile Phe Ser Tyr Leu Asp Ala			293
80	85	90	
gtg agc ctt ctg tgt act gga tgt gtg agc agg cgc ttt tat cat cta Val Ser Leu Leu Cys Thr Gly Cys Val Ser Arg Arg Phe Tyr His Leu			341
95	100	105	
gcc aat gac aat ttt att tgg atc gga atc tac tca act gct ttt tca Ala Asn Asp Asn Phe Ile Trp Ile Gly Ile Tyr Ser Thr Ala Phe Ser			389
110	115	120	
cct gca aga tca aat tgg aaa ttt aat tca gta gag aag ata gct atg Pro Ala Arg Ser Asn Trp Lys Phe Asn Ser Val Glu Lys Ile Ala Met			437
125	130	135	
tct atg agc ttt ctg tca gtt cag gat aaa gaa gct ggt tat tgg aag Ser Met Ser Phe Leu Ser Val Gln Asp Lys Glu Ala Gly Tyr Trp Lys			485
140	145	150	155
aaa gaa tat atc aca aaa caa ata gca tct gta aaa gcc gca cta gct Lys Glu Tyr Ile Thr Lys Gln Ile Ala Ser Val Lys Ala Ala Leu Ala			533
160	165	170	
gac att ctc aaa cct gtc aac cct tac aca ggc ctt cca gtt aag acc Asp Ile Leu Lys Pro Val Asn Pro Tyr Thr Gly Leu Pro Val Lys Thr			581
175	180	185	
aaa gag gcc ctc aga ata ttt ggt tta ggt tgg gca att ata ctg aaa Lys Glu Ala Leu Arg Ile Phe Gly Leu Gly Trp Ala Ile Ile Leu Lys			629
190	195	200	
gaa aaa ggt gga aaa gaa tat atc atg gag cat gtt gat ctt tcc ata Glu Lys Gly Gly Lys Glu Tyr Ile Met Glu His Val Asp Leu Ser Ile			677
205	210	215	

aat gac aca tca gtt act gtt ata tgg tat ggc aaa aaa tgg cca tgc Asn Asp Thr Ser Val Thr Val Ile Trp Tyr Gly Lys Lys Trp Pro Cys 220 225 230 235	725
cta gca tca ttg tca acc tta gat tta tgt ggc atg aca cca gtt ttt Leu Ala Ser Leu Ser Thr Leu Asp Leu Cys Gly Met Thr Pro Val Phe 240 245 250	773
acc gac tgg tat aaa act ccc acc aaa cat aga ctc cga tgg cat tct Thr Asp Trp Tyr Lys Thr Pro Thr Lys His Arg Leu Arg Trp His Ser 255 260 265	821
tta att gca aag tac aat ctg agt cat ttg acc ata tct acc atg att Leu Ile Ala Lys Tyr Asn Leu Ser His Leu Thr Ile Ser Thr Met Ile 270 275 280	869
ggc tgt gac aga ctc att cggt atc ttc tgc ctg cac cct ggc ctc ctg Gly Cys Asp Arg Leu Ile Arg Ile Phe Cys Leu His Pro Gly Leu Leu 285 290 295	917
gtg gga gtg tgg aag aag gag gaa ctg gct ttt gtt atg gca aat Val Gly Val Trp Lys Lys Glu Glu Leu Ala Phe Val Met Ala Asn 300 305 310 315	965
ctt cat ttt cat cac ctt gtg gag agg agc aca tta ggc tcg gct act Leu His Phe His His Leu Val Glu Arg Ser Thr Leu Gly Ser Ala Thr 320 325 330	1013
atc ccc tat gaa ctg cct cca cat agc ccc ttt ttg gat gat agc ccc Ile Pro Tyr Glu Leu Pro Pro His Ser Pro Phe Leu Asp Asp Ser Pro 335 340 345	1061
gag tat gga ctg cac ggc tac caa ctc cat gtt gat ctg cac agc ggt Glu Tyr Gly Leu His Gly Tyr Gln Leu His Val Asp Leu His Ser Gly 350 355 360	1109
ggg gtt ttc tac cta tgt ggt aca ttt cgc aat ctc ttc acc aag aga Gly Val Phe Tyr Leu Cys Gly Thr Phe Arg Asn Leu Phe Thr Lys Arg 365 370 375	1157
gga aat att gaa aat gga cat gtg aag ctc att gtt ata cat tta aaa Gly Asn Ile Glu Asn Gly His Val Lys Leu Ile Val Ile His Leu Lys 380 385 390 395	1205
aat aac aga gaa cac cta cct ctt att gga aaa gtt ggc ctc tcg tgg Asn Asn Arg Glu His Leu Pro Leu Ile Gly Lys Val Gly Leu Ser Trp 400 405 410	1253
aaa act gat att ttt gat ggc tgt ata aag agt tgt tcc atg atg gac Lys Thr Asp Ile Phe Asp Gly Cys Ile Lys Ser Cys Ser Met Met Asp	1301

415

420

425

gta act ctt ttg gat gaa cat ggg aaa ccc ttt tgg tgt ttc agt tcc 1349  
 Val Thr Leu Leu Asp Glu His Gly Lys Pro Phe Trp Cys Phe Ser Ser  
 430 435 440

ccg gtg tgc ctg aga tcg cct gcc aca ccc tct gac agc tct agc ttc 1397  
 Pro Val Cys Leu Arg Ser Pro Ala Thr Pro Ser Asp Ser Ser Ser Phe  
 445 450 455

ttg gga cag aca tac aac gtg gac tac gtt gat gcg gaa gga aga gtg 1445  
 Leu Gly Gln Thr Tyr Asn Val Asp Tyr Val Asp Ala Glu Gly Arg Val  
 460 465 470 475

cac gtg gag ctg gtg tgg atc aga gag acc gaa gaa tac ctt att gtc 1493  
 His Val Glu Leu Val Trp Ile Arg Glu Thr Glu Glu Tyr Leu Ile Val  
 480 485 490

aac ctg gtc ctt tat ctt agt atc gca aaa atc aac cat tgg ttt ggg 1541  
 Asn Leu Val Leu Tyr Leu Ser Ile Ala Lys Ile Asn His Trp Phe Gly  
 495 500 505

act gaa tat tagcagtagg tggcaaatta ttgttgttat ttagttgttt 1590  
 Thr Glu Tyr  
 510

attttgact ggctttgttc ttgggtgttga aaattaaaat aaagcaaatc tgcaaaaaaa 1650  
 aaaaaaaaaa aaaaa 1665

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 510

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 12

Met Ala Thr Gly Arg Gly Arg Ile Leu Gln Gln His Trp Leu Gly Leu  
 1 5 10 15

Gln Thr Leu Arg Gly Pro Ser Arg Gly Gly Ala Ala Arg Gly Arg  
 20 25 30

Ala Arg Ala Phe Gly Cys Arg Lys Gly Pro Gly Val Lys Leu Ser Ala  
 35 40 45

Gly Ser Ala Ala Leu Arg Cys His Ala Gly Gly Gln His Trp Glu  
 50 55 60

Ser Ser Phe Ser Cys Cys Ser Gly Phe Leu Asp Gly Met Pro Ser Glu

65	70	75	80
Ile Leu Leu Lys Ile Phe Ser Tyr Leu Asp Ala Val Ser Leu Leu Cys			
85	90	95	
Thr Gly Cys Val Ser Arg Arg Phe Tyr His Leu Ala Asn Asp Asn Phe			
100	105	110	
Ile Trp Ile Gly Ile Tyr Ser Thr Ala Phe Ser Pro Ala Arg Ser Asn			
115	120	125	
Trp Lys Phe Asn Ser Val Glu Lys Ile Ala Met Ser Met Ser Phe Leu			
130	135	140	
Ser Val Gln Asp Lys Glu Ala Gly Tyr Trp Lys Lys Glu Tyr Ile Thr			
145	150	155	160
Lys Gln Ile Ala Ser Val Lys Ala Ala Leu Ala Asp Ile Leu Lys Pro			
165	170	175	
Val Asn Pro Tyr Thr Gly Leu Pro Val Lys Thr Lys Glu Ala Leu Arg			
180	185	.	190
Ile Phe Gly Leu Gly Trp Ala Ile Ile Leu Lys Glu Lys Gly Gly Lys			
195	200	205	
Glu Tyr Ile Met Glu His Val Asp Leu Ser Ile Asn Asp Thr Ser Val			
210	215	220	
Thr Val Ile Trp Tyr Gly Lys Lys Trp Pro Cys Leu Ala Ser Leu Ser			
225	230	235	240
Thr Leu Asp Leu Cys Gly Met Thr Pro Val Phe Thr Asp Trp Tyr Lys			
245	250	255	
Thr Pro Thr Lys His Arg Leu Arg Trp His Ser Leu Ile Ala Lys Tyr			
260	265	270	
Asn Leu Ser His Leu Thr Ile Ser Thr Met Ile Gly Cys Asp Arg Leu			
275	280	285	
Ile Arg Ile Phe Cys Leu His Pro Gly Leu Leu Val Gly Val Trp Lys			
290	295	300	
Lys Glu Glu Glu Leu Ala Phe Val Met Ala Asn Leu His Phe His His			
305	310	315	320
Leu Val Glu Arg Ser Thr Leu Gly Ser Ala Thr Ile Pro Tyr Glu Leu			
325	330	335	

Pro	Pro	His	Ser	Pro	Phe	Leu	Asp	Asp	Ser	Pro	Glu	Tyr	Gly	Leu	His
340							345							350	
Gly	Tyr	Gln	Leu	His	Val	Asp	Leu	His	Ser	Gly	Gly	Val	Phe	Tyr	Leu
355							360							365	
Cys	Gly	Thr	Phe	Arg	Asn	Leu	Phe	Thr	Lys	Arg	Gly	Asn	Ile	Glu	Asn
370							375						380		
Gly	His	Val	Lys	Leu	Ile	Val	Ile	His	Leu	Lys	Asn	Asn	Arg	Glu	His
385							390				395			400	
Leu	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys	Val	Gly	Leu	Ser	Trp	Lys	Thr	Asp	Ile	Phe
														415	
405								410							
Asp	Gly	Cys	Ile	Lys	Ser	Cys	Ser	Met	Met	Asp	Val	Thr	Leu	Leu	Asp
														430	
420								425							
Glu	His	Gly	Lys	Pro	Phe	Trp	Cys	Phe	Ser	Ser	Pro	Val	Cys	Leu	Arg
														445	
435							440								
Ser	Pro	Ala	Thr	Pro	Ser	Asp	Ser	Ser	Ser	Phe	Leu	Gly	Gln	Thr	Tyr
														460	
450							455								
Asn	Val	Asp	Tyr	Val	Asp	Ala	Glu	Gly	Arg	Val	His	Val	Glu	Leu	Val
														480	
465							470								
Trp	Ile	Arg	Glu	Thr	Glu	Glu	Tyr	Leu	Ile	Val	Asn	Leu	Val	Leu	Tyr
														495	
485								490							
Leu	Ser	Ile	Ala	Lys	Ile	Asn	His	Trp	Phe	Gly	Thr	Glu	Tyr		
														510	
500															

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 2184

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (190)..(1104)

&lt;400&gt; 13

agaaaggctg atttggttgg tgtcttgctc tttctgtggg aaggctgcgg ctcacttcct 60

tccgacttct tgataatttt gcatttagaca tttaactctt ctttctatga tctttccttc 120

tagacactga gttttttggc ttgtgcctaa aacctttca gaaatccctt ccctcgccat 180

cacactgac atg agt gtg ggt ctt cct ggt ccc cac agt ttg cct agt tct	231
Met Ser Val Gly Leu Pro Gly Pro His Ser Leu Pro Ser Ser	
1 5 10	
gag gaa gca tcg aat tct ggg aac gcc tca tca atg cct gca gtt ttt	279
Glu Glu Ala Ser Asn Ser Gly Asn Ala Ser Ser Met Pro Ala Val Phe	
15 20 25 30	
cat ccc gag aac tat tct tgc tta caa ggg tct gct act gag atg ctc	327
His Pro Glu Asn Tyr Ser Cys Leu Gln Gly Ser Ala Thr Glu Met Leu	
35 40 45	
tgc aca gag gct gcc tct cct cgc cct tcc tct gaa gac ctg cct ctt	375
Cys Thr Glu Ala Ala Ser Pro Arg Pro Ser Ser Glu Asp Leu Pro Leu	
50 55 60	
caa ggc agc cct gat tct tct acc agt ccc aaa caa aag ctc tca agt	423
Gln Gly Ser Pro Asp Ser Ser Thr Ser Pro Lys Gln Lys Leu Ser Ser	
65 70 75	
cct gag gct gac aag ggc cct gag gag gag aac aag gtc ctt gcc	471
Pro Glu Ala Asp Lys Gly Pro Glu Glu Glu Asn Lys Val Leu Ala	
80 85 90	
agg aag cag aag atg cgg act gtg ttc tct cag gcc cag ctg tgt gca	519
Arg Lys Gln Lys Met Arg Thr Val Phe Ser Gln Ala Gln Leu Cys Ala	
95 100 105 110	
ctc aag gac agg ttt cag aag cag aag tac ctc agc ctc cag cag atg	567
Leu Lys Asp Arg Phe Gln Lys Gln Lys Tyr Leu Ser Leu Gln Gln Met	
115 120 125	
caa gaa ctc tcc tcc att ctg aac ctg agc tat aag cag gtt aag acc	615
Gln Glu Leu Ser Ser Ile Leu Asn Leu Ser Tyr Lys Gln Val Lys Thr	
130 135 140	
tgg ttt caa aac caa agg gtg aag tgc aag cgg tgg cag aaa aac cag	663
Trp Phe Gln Asn Gln Arg Val Lys Cys Lys Arg Trp Gln Lys Asn Gln	
145 150 155	
tgg ttg aag act agc aat ggt ctg att cag aag ggc tca gca cca gtg	711
Trp Leu Lys Thr Ser Asn Gly Leu Ile Gln Lys Gly Ser Ala Pro Val	
160 165 170	
gag tat ccc agc atc cat tgc agc tat ccc cag ggc tat ctg gtg aac	759
Glu Tyr Pro Ser Ile His Cys Ser Tyr Pro Gln Gly Tyr Leu Val Asn	
175 180 185 190	
gca tct gga agc ctt tcc atg tgg ggc agc cag act tgg acc aac cca	807

Ala Ser Gly Ser Leu Ser Met Trp Gly Ser Gln Thr Trp Thr Asn Pro			
195	200	205	
act tgg agc agc cag acc tgg acc aac cca act tgg aac aac cag acc	855		
Thr Trp Ser Ser Gln Thr Trp Thr Asn Pro Thr Trp Asn Asn Gln Thr			
210	215	220	
tgg acc aac cca act tgg agc agc cag gcc tgg acc gct cag tcc tgg	903		
Trp Thr Asn Pro Thr Trp Ser Ser Gln Ala Trp Thr Ala Gln Ser Trp			
225	230	235	
aac ggc cag cct tgg aat gct gct ccg ctc cat aac ttc ggg gag gac	951		
Asn Gly Gln Pro Trp Asn Ala Ala Pro Leu His Asn Phe Gly Glu Asp			
240	245	250	
ttt ctg cag cct tac gta cag ttg cag caa aac ttc tct gcc agt gat	999		
Phe Leu Gln Pro Tyr Val Gln Leu Gln Gln Asn Phe Ser Ala Ser Asp			
255	260	265	270
ttg gag gtg aat ttg gaa gcc act agg gaa agc cat gcg cat ttt agc	1047		
Leu Glu Val Asn Leu Glu Ala Thr Arg Glu Ser His Ala His Phe Ser			
275	280	285	
acc cca caa gcc ttg gaa tta ttc ctg aac tac tct gtg act cca cca	1095		
Thr Pro Gln Ala Leu Glu Leu Phe Leu Asn Tyr Ser Val Thr Pro Pro			
290	295	300	
ggt gaa ata tgagacttac gcaacatctg ggcttaagt caggcaaag	1144		
Gly Glu Ile			
305			
ccaggttcct tccttcttcc aaatattttc atatTTTT taaagatttta ttatttttattt	1204		
atatgttaatg acactgttagc tgtcttcaga cactccagaa gagggcgatca gatcttgttta	1264		
cgtatggtttg tgagccacca tgtggttgct gggatttggaa ctcctgacct tcggaaagagc	1324		
agtcgggtgc tcttatccac tgagccatct caccagcccc tggtttattt tttaatttat	1384		
tatttgcttt ttgttatca agacagggtt tctctgcata gctctaattt tctttgaact	1444		
agctctgcag accagcctgg ccttgaactc agagatctgc ccacttatct ttgcctcctg	1504		
aatgctggga ccaaagggtgg cataccacca cacctggcat atatattgtt tatttctatt	1564		
tctatTTTta ttggtgccag agcaaaccctt ggacttagaa catgctgggc accaactcaa	1624		
cttctgagct ctatTTTaca ctgggtgtgt tagtgttattt gtcttagttc tgaatttgc	1684		
cttttttag tggtaactct aggctttggaa gacagtggagg tgcatatact ctctccttcc	1744		

caagaataag tgcttgaaca cccttaccca cgcccaccca cccatgctag tctttttct 1804  
 tagaagcgtg ggtcttgta tacactgtgt catttgagg ggtgaggttt aaaagtatat 1864  
 acaaagtata acgatatggc ggctactctc gaggatgaga cagaaggacc aggagttga 1924  
 gggtagctca gatatgcaat aagttcaagg ccaacctgta ctatgttaa atagtaagac 1984  
 agcatctcgtaaaaataata aaactaaagt ctcaacaaaa taaaagctt cacctattaa 2044  
 ggtgcttgct tgccttgaa gtccccaaag agtaactgct atgttaatat ctgtagaaag 2104  
 atgttatat ttgactgtac catgatgaac cgatgccagc tggactagtt taaacaaaaat 2164  
 aaaacactaa ttttacctt 2184

<210> 14  
 <211> 305  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

&lt;400&gt; 14

Met	Ser	Val	Gly	Leu	Pro	Gly	Pro	His	Ser	Leu	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
1														15	

Ala	Ser	Asn	Ser	Gly	Asn	Ala	Ser	Ser	Met	Pro	Ala	Val	Phe	His	Pro
									20				30		

Glu	Asn	Tyr	Ser	Cys	Leu	Gln	Gly	Ser	Ala	Thr	Glu	Met	Leu	Cys	Thr
									35				45		

Glu	Ala	Ala	Ser	Pro	Arg	Pro	Ser	Ser	Glu	Asp	Leu	Pro	Gln	Gly
									50				60	

Ser	Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Ser	Pro	Lys	Gln	Lys	Leu	Ser	Ser	Pro	Glu
									65					80	

Ala	Asp	Lys	Gly	Pro	Glu	Glu	Glu	Asn	Lys	Val	Leu	Ala	Arg	Lys
									85				95	

Gln	Lys	Met	Arg	Thr	Val	Phe	Ser	Gln	Ala	Gln	Leu	Cys	Ala	Leu	Lys
									100				110		

Asp	Arg	Phe	Gln	Lys	Gln	Lys	Tyr	Leu	Ser	Leu	Gln	Gln	Met	Gln	Glu
									115				125		

Leu	Ser	Ser	Ile	Leu	Asn	Leu	Ser	Tyr	Lys	Gln	Val	Lys	Thr	Trp	Phe
									130				140		

Gln Asn Gln Arg Val Lys Cys Lys Arg Trp Gln Lys Asn Gln Trp Leu  
 145 150 155 160  
 Lys Thr Ser Asn Gly Leu Ile Gln Lys Gly Ser Ala Pro Val Glu Tyr  
 165 170 175  
 Pro Ser Ile His Cys Ser Tyr Pro Gln Gly Tyr Leu Val Asn Ala Ser  
 180 185 190  
 Gly Ser Leu Ser Met Trp Gly Ser Gln Thr Trp Thr Asn Pro Thr Trp  
 195 200 205  
 Ser Ser Gln Thr Trp Thr Asn Pro Thr Trp Asn Asn Gln Thr Trp Thr  
 210 215 220  
 Asn Pro Thr Trp Ser Ser Gln Ala Trp Thr Ala Gln Ser Trp Asn Gly  
 225 230 235 240  
 Gln Pro Trp Asn Ala Ala Pro Leu His Asn Phe Gly Glu Asp Phe Leu  
 245 250 255  
 Gln Pro Tyr Val Gln Leu Gln Gln Asn Phe Ser Ala Ser Asp Leu Glu  
 260 265 270  
 Val Asn Leu Glu Ala Thr Arg Glu Ser His Ala His Phe Ser Thr Pro  
 275 280 285  
 Gln Ala Leu Glu Leu Phe Leu Asn Tyr Ser Val Thr Pro Pro Gly Glu  
 290 295 300  
 Ile  
 305

<210> 15  
 <211> 2114  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (217)..(1131)

<400> 15  
 attataaaatc tagagactcc aggatttaa cgttctgctg gactgagctg gttgcctcat 60  
 gttattatgc aggcaactca ctttatccca atttcttgat actttcctt ctggagggtcc 120



cag gga tgc ctg gtg aac ccg act ggg aac ctt cca atg tgg agc aac Gln Gly Cys Leu Val Asn Pro Thr Gly Asn Leu Pro Met Trp Ser Asn 185 190 195	810
cag acc tgg aac aat tca acc tgg agc aac cag acc cag aac atc cag Gln Thr Trp Asn Asn Ser Thr Trp Ser Asn Gln Thr Gln Asn Ile Gln 200 205 210	858
tcc tgg agc aac cac tcc tgg aac act cag acc tgg tgc acc caa tcc Ser Trp Ser Asn His Ser Trp Asn Thr Gln Thr Trp Cys Thr Gln Ser 215 220 225 230	906
tgg aac aat cag gcc tgg aac agt ccc ttc tat aac tgt gga gag gaa Trp Asn Asn Gln Ala Trp Asn Ser Pro Phe Tyr Asn Cys Gly Glu Glu 235 240 245	954
tct ctg cag tcc tgc atg cag ttc cag cca aat tct cct gcc agt gac Ser Leu Gln Ser Cys Met Gln Phe Gln Pro Asn Ser Pro Ala Ser Asp 250 255 260	1002
ttg gag gct ttg gaa gct gct ggg gaa ggc ctt aat gta ata cag Leu Glu Ala Ala Leu Glu Ala Ala Gly Glu Gly Leu Asn Val Ile Gln 265 270 275	1050
cag acc act agg tat ttt agt act cca caa acc atg gat tta ttc cta Gln Thr Arg Tyr Phe Ser Thr Pro Gln Thr Met Asp Leu Phe Leu 280 285 290	1098
aac tac tcc atg aac atg caa cct gaa gac gtg tgaagatgag tgaaaactgat Asn Tyr Ser Met Asn Met Gln Pro Glu Asp Val 295 300 305	1151
attactcaat ttcatgtctgg acactggctg aatccttcct ctccccctc cccatccctc ataggatttt tcttggtttgg aaaccacgtg ttctgggttc catgatgcct atccagtcaa tctcatggag ggtggagttat ggtggagcc taatcagcga ggtttctttt ttttttttc ctattggatc ttccctggaga aaatactttt tttttttttt ttgagacgga gtcttgctct gtcgcccagg ctggagtgca gtggcgccgt cttggctcac tgcaagctcc gcctccccc ttcacgcccatttcctgcct cagcctcccg agcagctggg actacaggcg cccgccacct cgccccggcta atatttgtat ttttagtag agacagggtt tcactgtgtt agccaggatg gtctcgatct cctgaccccttg tgatccgccc gcctcggcct ccctaacagc tgggattaca ggcgtgagcc accgcgcct gcctagaaaa gacatttaa taaccttggc tgctaaggac	1211 1271 1331 1391 1451 1511 1571 1631 1691

aacattgata gaagccgtct ctggctatag ataagtagat ctaatactag tttggatatc 1751  
tttagggttt agaatctaac ctcaagaata agaaataca gtacgaattg gtgatgaaga 1811  
tgtattcgta ttgtttggga ttgggaggct ttgcttattt tttaaaact attgaggtaa 1871  
agggttaagc tgtaacatac ttaattgatt tcttaccgtt tttggctctg ttttgctata 1931  
tcccctaatt tggtgggtgt gctaatcttt gtagaaagag gtcttgtatt tgctgcatacg 1991  
taatgacatg agtactactt tagttggttt aagtcaaataat gaatgaaaca aatattttc 2051  
ctttagttga ttttaccctg attcaccga gtgtttcgat gagtaaatat acagcttaaa 2111  
cat 2114

<210> 16  
<211> 305  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 16  
 Met Ser Val Asp Pro Ala Cys Pro Gln Ser Leu Pro Cys Phe Glu Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Asp Cys Lys Glu Ser Ser Pro Met Pro Val Ile Cys Gly Pro Glu  
 20 25 30  
 Glu Asn Tyr Pro Ser Leu Gln Met Ser Ser Ala Glu Met Pro His Thr  
 35 40 45  
 Glu Thr Val Ser Pro Leu Pro Ser Ser Met Asp Leu Leu Ile Gln Asp  
 50 55 60  
 Ser Pro Asp Ser Ser Thr Ser Pro Lys Gly Lys Gln Pro Thr Ser Ala  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Ser Val Ala Lys Lys Glu Asp Lys Val Pro Val Lys Lys Gln  
 85 90 95  
 Lys Thr Arg Thr Val Phe Ser Ser Thr Gln Leu Cys Val Leu Asn Asp  
 100 105 110  
 Arg Phe Gln Arg Gln Lys Tyr Leu Ser Leu Gln Gln Met Gln Glu Leu  
 115 120 125  
 Ser Asn Ile Leu Asn Leu Ser Tyr Lys Gln Val Lys Thr Trp Phe Gln  
 130 135 140

Asn Gln Arg Met Lys Ser Lys Arg Trp Gln Lys Asn Asn Trp Pro Lys  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Asn Gly Val Thr Gln Lys Ala Ser Ala Pro Thr Tyr Pro Ser  
 165 170 175  
 Leu Tyr Ser Ser Tyr His Gln Gly Cys Leu Val Asn Pro Thr Gly Asn  
 180 185 190  
 Leu Pro Met Trp Ser Asn Gln Thr Trp Asn Asn Ser Thr Trp Ser Asn  
 195 200 205  
 Gln Thr Gln Asn Ile Gln Ser Trp Ser Asn His Ser Trp Asn Thr Gln  
 210 215 220  
 Thr Trp Cys Thr Gln Ser Trp Asn Asn Gln Ala Trp Asn Ser Pro Phe  
 225 230 235 240  
 Tyr Asn Cys Gly Glu Glu Ser Leu Gln Ser Cys Met Gln Phe Gln Pro  
 245 250 255  
 Asn Ser Pro Ala Ser Asp Leu Glu Ala Ala Leu Glu Ala Ala Gly Glu  
 260 265 270  
 Gly Leu Asn Val Ile Gln Gln Thr Thr Arg Tyr Phe Ser Thr Pro Gln  
 275 280 285  
 Thr Met Asp Leu Phe Leu Asn Tyr Ser Met Asn Met Gln Pro Glu Asp  
 290 295 300  
 Val  
 305

<210> 17  
 <211> 1078  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (178)..(858)

<400> 17  
 cagggtcgg gcaggtggga ggggaaagct cacatctccg ccctctgctg cctctggggg 60  
 tagggagcat cctaaccccc aactgtccgg tcagatccgc ctactcccc tcatacgact 120  
 gctactcctg ggagcacagc acctgcttt tacacctt ccttgagctg ctgggga 177

atg gct ttg cct aca aag tct agc atc ttg gac ctg agc tcc ggc acc Met Ala Leu Pro Thr Lys Ser Ser Ile Leu Asp Leu Ser Ser Gly Thr	225
1 5 10 15	
cca tgc acc aga tct cca gag gaa agt cac gag gct tgg gca cag tgc Pro Cys Thr Arg Ser Pro Glu Glu Ser His Glu Ala Trp Ala Gln Cys	273
20 25 30	
aaa gat gct ggc agg cag cta ccc gag tac aag gca gtg gtg gtg ggt Lys Asp Ala Gly Arg Gln Leu Pro Glu Tyr Lys Ala Val Val Val Gly	321
35 40 45	
gca agt ggt gtt ggt aaa agt gct ctc acc atc cag atg act cac caa Ala Ser Gly Val Gly Lys Ser Ala Leu Thr Ile Gln Met Thr His Gln	369
50 55 60	
tgc ttc gtg aaa gac cat gac ccc act atc caa gat tcc tac tgg aag Cys Phe Val Lys Asp His Asp Pro Thr Ile Gln Asp Ser Tyr Trp Lys	417
65 70 75 80	
gaa gtg gcc agg gac aac gga ggc tac att cta aat gtt ctg gat aca Glu Val Ala Arg Asp Asn Gly Gly Tyr Ile Leu Asn Val Leu Asp Thr	465
85 90 95	
tct ggg cag gat att cac cgg gct ctg cgt gac cag tgc ttg gca tct Ser Gly Gln Asp Ile His Arg Ala Leu Arg Asp Gln Cys Leu Ala Ser	513
100 105 110	
ggt gat ggt gtg ctg ggc gtc ttt gct ctt gac gac ccc tcg tct ctg Gly Asp Gly Val Leu Gly Val Phe Ala Leu Asp Asp Pro Ser Ser Leu	561
115 120 125	
gac cag ttg cag cag ata tgg tcc acc tgg acc cct cac cac aag cag Asp Gln Leu Gln Gln Ile Trp Ser Thr Trp Thr Pro His His Lys Gln	609
130 135 140	
cct ctg gta cta gtg ggc aac aag tgt gac ctg gtg acc act gct gga Pro Leu Val Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Val Thr Thr Ala Gly	657
145 150 155 160	
gat gct cat gct gcc gca gcc ctc ctt gct cac aag ttg ggg gcc ccc Asp Ala His Ala Ala Ala Leu Leu Ala His Lys Leu Gly Ala Pro	705
165 170 175	
ttg gtg aag acc tca gcc aag acg cgg caa ggt gtg gag gaa gcc ttt Leu Val Lys Thr Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Glu Ala Phe	753
180 185 190	
gcc ctg ctt gtc cat gag att cag agg gcc cag gag gct gtg gcc gaa	801

Ala Leu Leu Val His Glu Ile Gln Arg Ala Gln Glu Ala Val Ala Glu  
 195 200 205

tca agc aag aag acc cga cac cag aaa gcc gtg tgt agc tgt ggc tgc 849  
 Ser Ser Lys Lys Thr Arg His Gln Lys Ala Val Cys Ser Cys Gly Cys  
 210 215 220

tct gta gcc tgaagatctt tgtcttagcaa attgaccctt gtctcatgtc 898  
 Ser Val Ala  
 225

aaggtagacaa ttctcttgta ataagatctc cctctccgac caagttacca cagacatctt 958  
 tttattgtca tttgggtgaga agttacgtgg taacatggga catccctcat tgactgtgtt 1018  
 ttatgaaact ctatgcaaaa ttaaataaat gtttcagga ttcaaagctt cctttataacc 1078

<210> 18  
<211> 227  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 18  
Met Ala Leu Pro Thr Lys Ser Ser Ile Leu Asp Leu Ser Ser Gly Thr  
 1 5 10 15

Pro Cys Thr Arg Ser Pro Glu Glu Ser His Glu Ala Trp Ala Gln Cys  
 20 25 30

Lys Asp Ala Gly Arg Gln Leu Pro Glu Tyr Lys Ala Val Val Val Gly  
 35 40 45

Ala Ser Gly Val Gly Lys Ser Ala Leu Thr Ile Gln Met Thr His Gln  
 50 55 60

Cys Phe Val Lys Asp His Asp Pro Thr Ile Gln Asp Ser Tyr Trp Lys  
 65 70 75 80

Glu Val Ala Arg Asp Asn Gly Gly Tyr Ile Leu Asn Val Leu Asp Thr  
 85 90 95

Ser Gly Gln Asp Ile His Arg Ala Leu Arg Asp Gln Cys Leu Ala Ser  
 100 105 110

Gly Asp Gly Val Leu Gly Val Phe Ala Leu Asp Asp Pro Ser Ser Leu  
 115 120 125

Asp Gln Leu Gln Gln Ile Trp Ser Thr Trp Thr Pro His His Lys Gln  
 130 135 140

Pro Leu Val Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Val Thr Thr Ala Gly  
145 150 155 160

Asp Ala His Ala Ala Ala Leu Leu Ala His Lys Leu Gly Ala Pro  
165 170 175

Leu Val Lys Thr Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Glu Ala Phe  
180 185 190

Ala Leu Leu Val His Glu Ile Gln Arg Ala Gln Glu Ala Val Ala Glu  
195 200 205

Ser Ser Lys Lys Thr Arg His Gln Lys Ala Val Cys Ser Cys Gly Cys  
210 215 220

Ser Val Ala  
225

<210> 19

<211> 1266

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (252)..(950)

<400> 19

cgtgaggagg gaaggagaga tggggggacg tggcacaggg agaaaaacaac ataaatcata 60

tatatatagc atgcaaattg gaaggtgatc agcacacaat aggcatcaat taaatgttga 120

aataatgaca cccactgtc tccttgccct caaatggtct cccctaacgt atcccctgtt 180

gtcttgcttc ttctcttccc acttgcagag cctgctgcc acgtctcttc cctgagctgc 240

ctgctgggtt c atg gag ctg cca aca aag cct ggc acc ttc gac ctg ggc 290  
Met Glu Leu Pro Thr Lys Pro Gly Thr Phe Asp Leu Gly  
1 5 10

ctg gcc aca tgg agc cct tcc ttc cag ggg gaa acc cac cgg gct cag 338  
Leu Ala Thr Trp Ser Pro Ser Phe Gln Gly Glu Thr His Arg Ala Gln  
15 20 25

gca cgc cgc agg gat gtt ggc agg cag ctg cct gag tac aag gct gtg 386  
Ala Arg Arg Arg Asp Val Gly Arg Gln Leu Pro Glu Tyr Lys Ala Val  
30 35 40 45

gtg gtg ggc gcc agt ggc gtg ggc aag agt gcg ctg acc atc cag ctg Val Val Gly Ala Ser Gly Val Gly Lys Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu	50	55	60	434	
aac cac cag tgc ttc gtg gag gac cac gac ccc acc atc cag gat tcc Asn His Gln Cys Phe Val Glu Asp His Asp Pro Thr Ile Gln Asp Ser	65	70	75	482	
tac tgg aag gag ttg acc ctg gac agt ggg gac tgc att ctg aat gtg Tyr Trp Lys Glu Leu Thr Leu Asp Ser Gly Asp Cys Ile Leu Asn Val	80	85	90	530	
ctg gac aca gca ggg cag gcc atc cat agg gcc ctg cgt gac cag tgc Leu Asp Thr Ala Gly Gln Ala Ile His Arg Ala Leu Arg Asp Gln Cys	95	100	105	578	
ctg gct gtc tgt gat ggt gtg ctg ggc gtc ttc gct ctc gat gac ccc Leu Ala Val Cys Asp Gly Val Leu Gly Val Phe Ala Leu Asp Asp Pro	110	115	120	125	626
tcg tct ctg atc cag ctg cag cag ata tgg gcc acc tgg ggc cct cac Ser Ser Leu Ile Gln Leu Gln Ile Trp Ala Thr Trp Gly Pro His	130	135	140	674	
ccc gcc cag ccc ctt gtc ctc gtg ggc aac aag tgt gac ctt gtg acc Pro Ala Gln Pro Leu Val Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Val Thr	145	150	155	722	
act gct gga gat gct cat gcc gct gca gcc ctc gca cac agc tgg Thr Ala Gly Asp Ala His Ala Ala Ala Leu Ala His Ser Trp	160	165	170	770	
ggg gcc cac ttc gtg gag acc tcg gcc aaa aca cgg caa ggc gtg gag Gly Ala His Phe Val Glu Thr Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu	175	180	185	818	
gag gcc ttt tcc ctg ctg gtc cat gag atc cag agg gtc cag gag gcc Glu Ala Phe Ser Leu Leu Val His Glu Ile Gln Arg Val Gln Glu Ala	190	195	200	205	866
atg gcg aag gag ccc atg gca agg tcc tgt agg gag aag acc cgg cac Met Ala Lys Glu Pro Met Ala Arg Ser Cys Arg Glu Lys Thr Arg His	210	215	220	914	
cag aag gcc acc tgc cac tgt ggc tgc tct gtg gcc tgaaggctt Gln Lys Ala Thr Cys His Cys Gly Cys Ser Val Ala	225	230		960	
ggccaagaaa tgtagacctt tccccaggcc agggtgattt ttcatttgac atgagacc 出証特2005-3026184				1020	

tgaggcaact agcttgagg gacacatcag gtatacttagg gaaagatgga catctcttt 1080  
gttttcactt ggtgaggggc ttttggtaa catgggagtg cctaattttt cttttgttat 1140  
gtcaagttga aagatttgt gcaaaattaa ataaatggtg ttttgggtt caaagctgcc 1200  
tccatgccga gtgttgtgtg ggtgggagtg agactggta gaatgttact tgagttgtga 1260  
gaattc 1266

<210> 20  
<211> 233  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 20  
Met Glu Leu Pro Thr Lys Pro Gly Thr Phe Asp Leu Gly Leu Ala Thr  
1 5 10 15

Trp Ser Pro Ser Phe Gln Gly Glu Thr His Arg Ala Gln Ala Arg Arg  
20 25 30

Arg Asp Val Gly Arg Gln Leu Pro Glu Tyr Lys Ala Val Val Val Gly  
35 40 45

Ala Ser Gly Val Gly Lys Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Asn His Gln  
50 55 60

Glu Leu Thr Leu Asp Ser Gly Asp Cys Ile Leu Asn Val Leu Asp Thr  
85 90 95

Ala Gly Gln Ala Ile His Arg Ala Leu Arg Asp Gln Cys Leu Ala Val  
100 105 110

Cys Asp Gly Val Leu Gly Val Phe Ala Leu Asp Asp Pro Ser Ser Leu  
115 120 125

Ile Gln Leu Gln Gln Ile Trp Ala Thr Trp Gly Pro His Pro Ala Gln  
130 135 140

Pro Leu Val Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Val Thr Thr Ala Gly  
145 150 155 160

Asp Ala His Ala Ala Ala Ala Leu Ala His Ser Trp Gly Ala His  
165 170 175

Phe Val Glu Thr Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Glu Ala Phe  
 180 185 190

Ser Leu Leu Val His Glu Ile Gln Arg Val Gln Glu Ala Met Ala Lys  
 195 200 205

Glu Pro Met Ala Arg Ser Cys Arg Glu Lys Thr Arg His Gln Lys Ala  
 210 215 220

Thr Cys His Cys Gly Cys Ser Val Ala  
 225 230

<210> 21

<211> 1063

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (177)..(872)

<400> 21

gatacaaatt cgaatgtagg tgcttaggcgc gcttgtgtta gagtgttgt tagggagac 60

tgtatggaaatc cacagtccaa ttagtacagg gcctgtcctc cgtgtggcag cttcacccgg 120

gagttgctgg cctggctgcc tacctgctt cctgagatcc agggacttt cccaga atg 179

Met

1

gct ttg ggt gac ctc ctg ctg tct gtc ctc tct gcc cag gaa atg aat 227  
 Ala Leu Gly Asp Leu Leu Leu Ser Val Leu Ser Ala Gln Glu Met Asn  
 5 10 15

gcc ctt cgt ggc cag gtg ggc ggg gac gtc aat gtg gag atg gac gcc 275  
 Ala Leu Arg Gly Gln Val Gly Gly Asp Val Asn Val Glu Met Asp Ala  
 20 25 30

gcc ccc ggt gtg gac ctg agc cgc atc ctg aac gag atg cgg gat cag 323  
 Ala Pro Gly Val Asp Leu Ser Arg Ile Leu Asn Glu Met Arg Asp Gln  
 35 40 45

tat gag aag atg gcg gag aag aac cgc aag gat gct gag gaa tgg ttc 371  
 Tyr Glu Lys Met Ala Glu Lys Asn Arg Lys Asp Ala Glu Glu Trp Phe  
 50 55 60 65

ttc acc aag aca gag gag ctg aac cga gaa gtg gcc acc aac acg gag 419

Phe	Thr	Lys	Thr	Glu	Glu	Leu	Asn	Arg	Glu	Val	Ala	Thr	Asn	Thr	Glu	
70																467
Ala	Leu	Gln	Ser	Ser	Arg	Thr	Glu	Ile	Thr	Glu	Leu	Arg	Arg	Ser	Val	
85																95
cag	aac	ctg	gag	att	gag	ctg	cag	tcc	cag	ctc	agc	atg	aaa	gca	tca	
Gln	Asn	Leu	Glu	Ile	Glu	Leu	Gln	Ser	Gln	Leu	Ser	Met	Lys	Ala	Ser	
100																110
ctg	gag	aac	agc	ctg	gca	gag	aca	gag	gcg	cgc	tat	ggg	gcc	cag	ctg	
Leu	Glu	Asn	Ser	Leu	Ala	Glu	Thr	Glu	Ala	Arg	Tyr	Gly	Ala	Gln	Leu	
115																125
gcg	cag	ctg	cag	ggc	ctc	att	agc	agt	gtg	gaa	cag	cag	ctg	tgt	gag	
Ala	Gln	Leu	Gln	Gly	Leu	Ile	Ser	Ser	Val	Glu	Gln	Gln	Leu	Cys	Glu	
130																145
ctg	cgt	tgt	gac	atg	gaa	agg	cag	aat	cat	gag	tac	cag	gtg	ctg	ctg	
Leu	Arg	Cys	Asp	Met	Glu	Arg	Gln	Asn	His	Glu	Tyr	Gln	Val	Leu	Leu	
150																160
gat	gtg	aag	acc	cga	ctg	gag	cag	gag	atc	gcc	acc	tac	cgc	cgt	ctg	
Asp	Val	Lys	Thr	Arg	Leu	Glu	Gln	Glu	Ile	Ala	Thr	Tyr	Arg	Arg	Leu	
165																175
ctg	gag	ggc	gag	gac	gcc	cac	ctg	gct	act	caa	tac	tcc	tca	tcc	ctg	
Leu	Glu	Gly	Glu	Asp	Ala	His	Leu	Ala	Thr	Gln	Tyr	Ser	Ser	Ser	Leu	
180																190
gct	tcg	cag	ccc	tcc	cga	gaa	ggc	atg	gtg	acc	agc	cgc	cag	gtg	cgc	
Ala	Ser	Gln	Pro	Ser	Arg	Glu	Gly	Met	Val	Thr	Ser	Arg	Gln	Val	Arg	
195																205
acc	att	gtg	gag	gaa	gtc	cag	gat	ggt	aag	gtg	ttt	tcc	tcc	aga	gag	
Thr	Ile	Val	Glu	Glu	Val	Gln	Asp	Gly	Lys	Val	Phe	Ser	Ser	Arg	Glu	
210																225
cag	gag	cac	cgc	tcc	acc	cac	tgaggccct	gtctgcgtat	gatagccag							902
Gln	Glu	His	Arg	Ser	Thr	His										
230																
gccccaggacc	ttaggctgca	gctccctgca	tctactgcc	agcctgaact	cctatgagct											962
agctgttgcc	ttctgtgttt	gctttgtgct	gccccttaca	gagaggcccc	ttggggttgac											1022
cccaaaaaatt	gctaataaaag	cttgaagaa	gtctgatcct	t												1063

<210> 22  
<211> 232  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 22  
Met Ala Leu Gly Asp Leu Leu Leu Ser Val Leu Ser Ala Gln Glu Met  
1 5 10 15  
Asn Ala Leu Arg Gly Gln Val Gly Gly Asp Val Asn Val Glu Met Asp  
20 25 30  
Ala Ala Pro Gly Val Asp Leu Ser Arg Ile Leu Asn Glu Met Arg Asp  
35 40 45  
Gln Tyr Glu Lys Met Ala Glu Lys Asn Arg Lys Asp Ala Glu Glu Trp  
50 55 60  
Phe Phe Thr Lys Thr Glu Glu Leu Asn Arg Glu Val Ala Thr Asn Thr  
65 70 75 80  
Glu Ala Leu Gln Ser Ser Arg Thr Glu Ile Thr Glu Leu Arg Arg Ser  
85 90 95  
Val Gln Asn Leu Glu Ile Glu Leu Gln Ser Gln Leu Ser Met Lys Ala  
100 105 110  
Ser Leu Glu Asn Ser Leu Ala Glu Thr Glu Ala Arg Tyr Gly Ala Gln  
115 120 125  
Leu Ala Gln Leu Gln Gly Leu Ile Ser Ser Val Glu Gln Gln Leu Cys  
130 135 140  
Glu Leu Arg Cys Asp Met Glu Arg Gln Asn His Glu Tyr Gln Val Leu  
145 150 155 160  
Leu Asp Val Lys Thr Arg Leu Glu Gln Glu Ile Ala Thr Tyr Arg Arg  
165 170 175  
Leu Leu Glu Gly Glu Asp Ala His Leu Ala Thr Gln Tyr Ser Ser Ser  
180 185 190  
Leu Ala Ser Gln Pro Ser Arg Glu Gly Met Val Thr Ser Arg Gln Val  
195 200 205  
Arg Thr Ile Val Glu Glu Val Gln Asp Gly Lys Val Phe Ser Ser Arg  
210 215 220  
Glu Gln Glu His Arg Ser Thr His  
225 230

<210> 23  
<211> 1670  
<212> DNA  
<213> Mus musculus

<220>  
<221> CDS  
<222> (139)..(1401)

<400> 23  
gacaccctca accccatcat cccaggccct cataggctcc atccagcatt acgtcctcat 60

ccctacacctac gggttctgac gaccctgctg tcacacccgc catcccttgg acgcagaccc 120

ttcttagccga ttacatca atg ggt tcc cgg gag aca cct tct tgc tct 171  
Met Gly Ser Arg Glu Thr Pro Ser Ser Cys Ser  
1 5 10

aag acc ctt gaa acc ttg gac ctg gag act tcc gac agc tct agc cct 219  
Lys Thr Leu Glu Thr Leu Asp Leu Glu Thr Ser Asp Ser Ser Pro  
15 20 25

gat gct gac agt cct ctg gaa gag caa tgg ctg aaa tcc tcc cca gcc 267  
Asp Ala Asp Ser Pro Leu Glu Gln Trp Leu Lys Ser Ser Pro Ala  
30 35 40

ctg aag gag gac agt gtg gat gtg gta ctg gaa gac tgc aaa gag cct 315  
Leu Lys Glu Asp Ser Val Asp Val Val Leu Glu Asp Cys Lys Glu Pro  
45 50 55

ctg tcc ccc tcc tcg cct ccg aca ggc aga gag atg atc agg tac gaa 363  
Leu Ser Pro Ser Pro Pro Thr Gly Arg Glu Met Ile Arg Tyr Glu  
60 65 70 75

gtc aaa gtg aac cga cgg agc att gaa gac atc tgc ctc tgc tgt gga 411  
Val Lys Val Asn Arg Arg Ser Ile Glu Asp Ile Cys Leu Cys Cys Gly  
80 85 90

act ctc cag gtg tac act cgg cac ccc ttg ttt gag gga ggg tta tgt 459  
Thr Leu Gln Val Tyr Thr Arg His Pro Leu Phe Glu Gly Gly Leu Cys  
95 100 105

gcc cca tgt aag gat aag ttc ctg gag tcc ctc ttc ctg tat gat gat 507  
Ala Pro Cys Lys Asp Lys Phe Leu Glu Ser Leu Phe Leu Tyr Asp Asp  
110 115 120

gat gga cac cag agt tac tgc acc atc tgc tgt tcc ggg ggt acc ctg 555

Asp	Gly	His	Gln	Ser	Tyr	Cys	Thr	Ile	Cys	Cys	Ser	Gly	Gly	Thr	Leu	
125																
ttc	atc	tgt	gag	agc	ccc	gac	tgt	acc	aga	tgc	tac	tgt	ttc	gag	tgt	603
Phe	Ile	Cys	Glu	Ser	Pro	Asp	Cys	Thr	Arg	Cys	Tyr	Cys	Phe	Glu	Cys	
140																155
gtg	gac	atc	ctg	gtg	ggc	ccc	ggg	acc	tca	gag	agg	atc	aat	gcc	atg	651
Val	Asp	Ile	Leu	Val	Gly	Pro	Gly	Thr	Ser	Glu	Arg	Ile	Asn	Ala	Met	
160																170
gcc	tgc	tgg	gtt	tgc	ttc	ctg	tgc	ccc	ttc	tca	cgg	agt	gga	ctg		699
Ala	Cys	Trp	Val	Cys	Phe	Leu	Cys	Leu	Pro	Phe	Ser	Arg	Ser	Gly	Leu	
175																185
ctg	cag	agg	cgc	aag	agg	tgg	cgg	cac	cag	ctg	aag	gcc	ttc	cat	gat	747
Leu	Gln	Arg	Arg	Lys	Arg	Trp	Arg	His	Gln	Leu	Lys	Ala	Phe	His	Asp	
190																200
caa	gag	gga	gcf	ggc	cct	atg	gag	ata	tac	aag	aca	gtg	tct	gca	tgg	795
Gln	Glu	Gly	Ala	Gly	Pro	Met	Glu	Ile	Tyr	Lys	Thr	Val	Ser	Ala	Trp	
205																215
aag	aga	cag	cca	gtg	cgg	gta	ctg	agc	ctt	ttt	aga	aat	att	gat	aaa	843
Lys	Arg	Gln	Pro	Val	Arg	Val	Leu	Ser	Leu	Phe	Arg	Asn	Ile	Asp	Lys	
220																235
gta	cta	aag	agt	ttg	ggc	ttt	ttg	gaa	agc	ggt	tct	ggt	tct	ggg	gga	891
Val	Leu	Lys	Ser	Leu	Gly	Phe	Leu	Glu	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	
240																250
gga	acg	ctg	aag	tac	gtg	gaa	gat	gtc	aca	aat	gtc	gtg	agg	aga	gac	939
Gly	Thr	Leu	Lys	Tyr	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asn	Val	Val	Arg	Arg	Asp	
255																265
gtg	gag	aaa	tgg	ggc	ccc	ttt	gac	ctg	gtg	tac	ggc	tcg	acg	cag	ccc	987
Val	Glu	Lys	Trp	Gly	Pro	Phe	Asp	Leu	Val	Tyr	Gly	Ser	Thr	Gln	Pro	
270																280
cta	ggc	agc	tct	tgt	gat	cgc	tgt	ccc	ggc	tgg	tac	atg	ttc	cag	ttc	1035
Leu	Gly	Ser	Ser	Cys	Asp	Arg	Cys	Pro	Gly	Trp	Tyr	Met	Phe	Gln	Phe	
285																295
cac	cgg	atc	ctg	cag	tat	gcg	ctg	cct	cgc	cag	gag	agt	cag	cgg	ccc	1083
His	Arg	Ile	Leu	Gln	Tyr	Ala	Leu	Pro	Arg	Gln	Glu	Ser	Gln	Arg	Pro	
300																315
ttc	ttc	tgg	ata	ttc	atg	gac	aat	ctg	ctg	act	gag	gat	gac	caa		1131
Phe	Phe	Trp	Ile	Phe	Met	Asp	Asn	Leu	Leu	Leu	Thr	Glu	Asp	Asp	Gln	
320																330

gag aca act acc cgc ttc ctt cag aca gag gct gtg acc ctc cag gat 1179  
 Glu Thr Thr Thr Arg Phe Leu Gln Thr Glu Ala Val Thr Leu Gln Asp  
 335 340 345

gtc cgt ggc aga gac tac cag aat gct atg cggttgg agc aac att 1227  
 Val Arg Gly Arg Asp Tyr Gln Asn Ala Met Arg Val Trp Ser Asn Ile  
 350 355 360

cca ggg ctg aag agc aag cat gcgc ccc ctg acc cca aag gaa gaa gag 1275  
 Pro Gly Leu Lys Ser Lys His Ala Pro Leu Thr Pro Lys Glu Glu Glu  
 365 370 375

tat ctg caa gcc caa gtc aga agc agg agc aag ctg gac gcc ccg aaa 1323  
 Tyr Leu Gln Ala Gln Val Arg Ser Arg Ser Lys Leu Asp Ala Pro Lys  
 380 385 390 395

gtt gac ctc ctg gtg aag aac tgc ctt ctc ccg ctg aga gag tac ttc 1371  
 Val Asp Leu Leu Val Lys Asn Cys Leu Leu Pro Leu Arg Glu Tyr Phe  
 400 405 410

aag tat ttt tct caa aac tca ctt cct ctt tagaaatgaa tcaccataag 1421  
 Lys Tyr Phe Ser Gln Asn Ser Leu Pro Leu  
 415 420

atgaaagtct ttccctagaac cagggcagat ttcttcctaa ggtctttcc ctccacagtt 1481  
 ttctctgggt tgcttcagg cttcggtt tcttcctgt ttgattgccg ggatgcctct 1541  
 gtgcagctca cttgcgggg tgggaggtgc ctacggctct gcacaagttc ccgggtggat 1601  
 aacctgccat gttctctga aactgtgtgt acctgttg aagttttca aatatatcat 1661  
 aggattgtt 1670

<210> 24  
 <211> 421  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 24  
 Met Gly Ser Arg Glu Thr Pro Ser Ser Cys Ser Lys Thr Leu Glu Thr  
 1 5 10 15

Leu Asp Leu Glu Thr Ser Asp Ser Ser Ser Pro Asp Ala Asp Ser Pro  
 20 25 30

Leu Glu Glu Gln Trp Leu Lys Ser Ser Pro Ala Leu Lys Glu Asp Ser  
 35 40 45

Val Asp Val Val Leu Glu Asp Cys Lys Glu Pro Leu Ser Pro Ser Ser  
 50 55 60

Pro Pro Thr Gly Arg Glu Met Ile Arg Tyr Glu Val Lys Val Asn Arg  
 65 70 75 80

Arg Ser Ile Glu Asp Ile Cys Leu Cys Cys Gly Thr Leu Gln Val Tyr  
 85 90 95

Thr Arg His Pro Leu Phe Glu Gly Gly Leu Cys Ala Pro Cys Lys Asp  
 100 105 110

Lys Phe Leu Glu Ser Leu Phe Leu Tyr Asp Asp Asp Gly His Gln Ser  
 115 120 125

Tyr Cys Thr Ile Cys Cys Ser Gly Gly Thr Leu Phe Ile Cys Glu Ser  
 130 135 140

Pro Asp Cys Thr Arg Cys Tyr Cys Phe Glu Cys Val Asp Ile Leu Val  
 145 150 155 160

Gly Pro Gly Thr Ser Glu Arg Ile Asn Ala Met Ala Cys Trp Val Cys  
 165 170 175

Phe Leu Cys Leu Pro Phe Ser Arg Ser Gly Leu Leu Gln Arg Arg Lys  
 180 185 190

Arg Trp Arg His Gln Leu Lys Ala Phe His Asp Gln Glu Gly Ala Gly  
 195 200 205

Pro Met Glu Ile Tyr Lys Thr Val Ser Ala Trp Lys Arg Gln Pro Val  
 210 215 220

Arg Val Leu Ser Leu Phe Arg Asn Ile Asp Lys Val Leu Lys Ser Leu  
 225 230 235 240

Gly Phe Leu Glu Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Leu Lys Tyr  
 245 250 255

Val Glu Asp Val Thr Asn Val Val Arg Arg Asp Val Glu Lys Trp Gly  
 260 265 270

Pro Phe Asp Leu Val Tyr Gly Ser Thr Gln Pro Leu Gly Ser Ser Cys  
 275 280 285

Asp Arg Cys Pro Gly Trp Tyr Met Phe Gln Phe His Arg Ile Leu Gln  
 290 295 300

Tyr Ala Leu Pro Arg Gln Glu Ser Gln Arg Pro Phe Phe Trp Ile Phe

305	310	315	320
Met Asp Asn Leu Leu Leu Thr Glu Asp Asp Gln Glu Thr Thr Thr Arg			
325	330		335
Phe Leu Gln Thr Glu Ala Val Thr Leu Gln Asp Val Arg Gly Arg Asp			
340	345		350
Tyr Gln Asn Ala Met Arg Val Trp Ser Asn Ile Pro Gly Leu Lys Ser			
355	360		365
Lys His Ala Pro Leu Thr Pro Lys Glu Glu Tyr Leu Gln Ala Gln			
370	375		380
Val Arg Ser Arg Ser Lys Leu Asp Ala Pro Lys Val Asp Leu Leu Val			
385	390	395	400
Lys Asn Cys Leu Leu Pro Leu Arg Glu Tyr Phe Lys Tyr Phe Ser Gln			
405	410		415
Asn Ser Leu Pro Leu			
420			

<210> 25  
 <211> 1705  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (485)..(1645)

<400> 25  
 cccatctcca cccctcccct gaacccact ccccactgag gtccccaaac cccacccctc 60  
 actccaccct gagggcccca tcctctgaac cccaatcccc cagccccact gagctcttaa 120  
 ccctccccac ctgagggttc ctttccctg cccgtcccc agttccttag ctccccaccc 180  
 caagtacccc cccgcagctc ctcgccccctc ccactgaaaa ccggcactga agggctgccc 240  
 cgcccccggcc cttcccgcc cccgcgggac acgcccagat tcttgcccc catagcctgg 300  
 tgacctctgg ccacccgctg tcccaagggtgg gcctggatcc ttccagctca ttctttgcct 360  
 gcgccgtccc tcgttccatg gcccagtcct ccccgaaaaac cctgagcctg gaagccccgg 420  
 accactggaa ctttgaaccc accagctggc tgtacccgga gccgtggcag cagccctcat 480

cccc atg gcg gcc atc cca gcc ctg gac cca gag gcc gag ccc agc atg Met Ala Ala Ile Pro Ala Leu Asp Pro Glu Ala Glu Pro Ser Met	529
1 5 10 15	
gac gtg att ttg gtg gga tcc agt gag ctc tca agc tcc gtt tca ccc Asp Val Ile Leu Val Gly Ser Ser Glu Leu Ser Ser Val Ser Pro	577
20 25 30	
ggg aca ggc aga gat ctt att gca tat gaa gtc aag gct aac cag cga Gly Thr Gly Arg Asp Leu Ile Ala Tyr Glu Val Lys Ala Asn Gln Arg	625
35 40 45	
aat ata gaa gac atc tgc atc tgc tgc gga agt ctc cag gtt cac aca Asn Ile Glu Asp Ile Cys Ile Cys Cys Gly Ser Leu Gln Val His Thr	673
50 55 60	
cag cac cct ctg ttt gag gga ggg atc tgc gcc cca tgt aag gac aag Gln His Pro Leu Phe Glu Gly Gly Ile Cys Ala Pro Cys Lys Asp Lys	721
65 70 75	
ttc ctg gat gcc ctc ttc ctg tac gac gat gac ggg tac caa tcc tac Phe Leu Asp Ala Leu Phe Leu Tyr Asp Asp Asp Gly Tyr Gln Ser Tyr	769
80 85 90 95	
tgc tcc atc tgc tcc gga gag acg ctg ctc atc tgc gga aac cct Cys Ser Ile Cys Cys Ser Gly Glu Thr Leu Leu Ile Cys Gly Asn Pro	817
100 105 110	
gat tgc acc cga tgc tac tgc ttc gag tgt gtg gat agc ctg gtc ggc Asp Cys Thr Arg Cys Tyr Cys Phe Glu Cys Val Asp Ser Leu Val Gly	865
115 120 125	
ccc ggg acc tcg ggg aag gtg cac gcc atg agc aac tgg gtg tgc tac Pro Gly Thr Ser Gly Lys Val His Ala Met Ser Asn Trp Val Cys Tyr	913
130 135 140	
ctg tgc ctg ccg tcc tcc cga agc ggg ctg ctg cag cgt cgg agg aag Leu Cys Leu Pro Ser Ser Arg Ser Gly Leu Leu Gln Arg Arg Arg Lys	961
145 150 155	
tgg cgc agc cag ctc aag gcc ttc tac gac cga gag tcg gag aat ccc Trp Arg Ser Gln Leu Lys Ala Phe Tyr Asp Arg Glu Ser Glu Asn Pro	1009
160 165 170 175	
ctt gag atg ttc gaa acc gtg cct gtg tgg agg aga cag cca gtc cgg Leu Glu Met Phe Glu Thr Val Pro Val Trp Arg Arg Gln Pro Val Arg	1057
180 185 190	
gtg ctg tcc ctt ttt gaa gac atc aag aaa gag ctg acg agt ttg ggc	1105

Val Leu Ser Leu Phe Glu Asp Ile Lys Lys Glu Leu Thr Ser Leu Gly			
195	200	205	
ttt ttg gaa agt ggt tct gac ccg gga caa ctg aag cat gtg gtt gat			1153
Phe Leu Glu Ser Gly Ser Asp Pro Gly Gln Leu Lys His Val Val Asp			
210	215	220	
gtc aca gac aca gtg agg aag gat gtg gag gag tgg gga ccc ttc gat			1201
Val Thr Asp Thr Val Arg Lys Asp Val Glu Glu Trp Gly Pro Phe Asp			
225	230	235	
ctt gtg tac ggc gcc aca gct ccc ctg ggc cac acc tgt gac cgt cct			1249
Leu Val Tyr Gly Ala Thr Ala Pro Leu Gly His Thr Cys Asp Arg Pro			
240	245	250	255
ccc agc tgg tac ctg ttc cag ttc cac cggttccctg cag tac gca cggttccctg			1297
Pro Ser Trp Tyr Leu Phe Gln Phe His Arg Phe Leu Gln Tyr Ala Arg			
260	265	270	
ccc aag cca ggc agc ccc agg ccc ttc ttc tgg atg ttc gtg gac aat			1345
Pro Lys Pro Gly Ser Pro Arg Pro Phe Phe Trp Met Phe Val Asp Asn			
275	280	285	
ctg gtg ctg aac aag gaa gac ctg gac gtc gca tct cgc ttc ctg gag			1393
Leu Val Leu Asn Lys Glu Asp Leu Asp Val Ala Ser Arg Phe Leu Glu			
290	295	300	
atg gag cca gtc acc atc cca gat gtc cac ggc gga tcc ttg cag aat			1441
Met Glu Pro Val Thr Ile Pro Asp Val His Gly Gly Ser Leu Gln Asn			
305	310	315	
gct gtc cgc gtg tgg agc aac atc cca gcc ata agg agc agc agg cac			1489
Ala Val Arg Val Trp Ser Asn Ile Pro Ala Ile Arg Ser Ser Arg His			
320	325	330	335
tgg gct ctg gtt tcg gaa gaa ttg tcc ctg ctg gcc cag aac aag			1537
Trp Ala Leu Val Ser Glu Glu Leu Ser Leu Leu Ala Gln Asn Lys			
340	345	350	
cag agc tcg aag ctc gcg gcc aag tgg ccc acc aag ctg gtg aag aac			1585
Gln Ser Ser Lys Leu Ala Ala Lys Trp Pro Thr Lys Leu Val Lys Asn			
355	360	365	
tgc ttt ctc ccc cta aga gaa tat ttc aag tat ttt tca aca gaa ctc			1633
Cys Phe Leu Pro Leu Arg Glu Tyr Phe Lys Tyr Phe Ser Thr Glu Leu			
370	375	380	
act tcc tct tta taaatgagtc actatactgt gaagaaaaag acttttccta			1685
Thr Ser Ser Leu			
385			

gaacaaaggc aactttcctc

1705

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 387

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 26

Met	Ala	Ala	Ile	Pro	Ala	Leu	Asp	Pro	Glu	Ala	Glu	Pro	Ser	Met	Asp
1								10						15	

Val	Ile	Leu	Val	Gly	Ser	Ser	Glu	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Pro	Gly
								25					30		

Thr	Gly	Arg	Asp	Leu	Ile	Ala	Tyr	Glu	Val	Lys	Ala	Asn	Gln	Arg	Asn
													45		
35								40							

Ile	Glu	Asp	Ile	Cys	Ile	Cys	Cys	Gly	Ser	Leu	Gln	Val	His	Thr	Gln
50								55			60				

His	Pro	Leu	Phe	Glu	Gly	Gly	Ile	Cys	Ala	Pro	Cys	Lys	Asp	Lys	Phe
														80	
65							70			75					

Leu	Asp	Ala	Leu	Phe	Leu	Tyr	Asp	Asp	Gly	Tyr	Gln	Ser	Tyr	Cys
85								90			95			

Ser	Ile	Cys	Cys	Ser	Gly	Glu	Thr	Leu	Leu	Ile	Cys	Gly	Asn	Pro	Asp
100								105			110				

Cys	Thr	Arg	Cys	Tyr	Cys	Phe	Glu	Cys	Val	Asp	Ser	Leu	Val	Gly	Pro
115						120		.		125					

Gly	Thr	Ser	Gly	Lys	Val	His	Ala	Met	Ser	Asn	Trp	Val	Cys	Tyr	Leu
130					135				140						

Cys	Leu	Pro	Ser	Ser	Arg	Ser	Gly	Leu	Leu	Gln	Arg	Arg	Lys	Trp
145					150			155			160			

Arg	Ser	Gln	Leu	Lys	Ala	Phe	Tyr	Asp	Arg	Glu	Ser	Glu	Asn	Pro	Leu
165								170			175				

Glu	Met	Phe	Glu	Thr	Val	Pro	Val	Trp	Arg	Arg	Gln	Pro	Val	Arg	Val
180							185			190					

Leu	Ser	Leu	Phe	Glu	Asp	Ile	Lys	Lys	Glu	Leu	Thr	Ser	Leu	Gly	Phe
195						200				205					

Leu Glu Ser Gly Ser Asp Pro Gly Gln Leu Lys His Val Val Asp Val

出証特2005-3026184

210                    215                    220

Thr Asp Thr Val Arg Lys Asp Val Glu Glu Trp Gly Pro Phe Asp Leu  
225                    230                    235                    240

Val Tyr Gly Ala Thr Ala Pro Leu Gly His Thr Cys Asp Arg Pro Pro  
245                    250                    255

Ser Trp Tyr Leu Phe Gln Phe His Arg Phe Leu Gln Tyr Ala Arg Pro  
260                    265                    270

Lys Pro Gly Ser Pro Arg Pro Phe Phe Trp Met Phe Val Asp Asn Leu  
275                    280                    285

Val Leu Asn Lys Glu Asp Leu Asp Val Ala Ser Arg Phe Leu Glu Met  
290                    295                    300

Glu Pro Val Thr Ile Pro Asp Val His Gly Gly Ser Leu Gln Asn Ala  
305                    310                    315                    320

Val Arg Val Trp Ser Asn Ile Pro Ala Ile Arg Ser Ser Arg His Trp  
325                    330                    335

Ala Leu Val Ser Glu Glu Glu Leu Ser Leu Leu Ala Gln Asn Lys Gln  
340                    345                    350

Ser Ser Lys Leu Ala Ala Lys Trp Pro Thr Lys Leu Val Lys Asn Cys  
355                    360                    365

Phe Leu Pro Leu Arg Glu Tyr Phe Lys Tyr Phe Ser Thr Glu Leu Thr  
370                    375                    380

Ser Ser Leu  
385

<210> 27

<211> 1560

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (147)..(1367)

<400> 27

ggtgcatgct agggcattac gaaggcttgtt ggtgcagagg ctcccaaggcc aggtcttttt 60

gtcggtggtg agggacgctc actctcactc cgcggtgtgt ctccccgtct gtgtgctgtg 120

atctccctcg tgagagaagg gccagg atg ttc gag gtc ctg gtg ctg aag att	1	5	173
Met Phe Glu Val Leu Val Leu Lys Ile			
gaa gat cca ggt tgc ttc tgg gta att ata aaa gga tgt agt cat ttt	10	15	221
Glu Asp Pro Gly Cys Phe Trp Val Ile Ile Lys Gly Cys Ser His Phe			
tta gaa caa gaa gtt gac tac caa aaa cta aac act gcc atg aat gac	30	35	269
Leu Glu Gln Glu Val Asp Tyr Gln Lys Leu Asn Thr Ala Met Asn Asp			
ttc tat aac agc atg tgt cag gac gta gaa atg aaa cca tta atg ctg	45	50	317
Phe Tyr Asn Ser Met Cys Gln Asp Val Glu Met Lys Pro Leu Met Leu			
gaa gaa ggg cag gtg tgt gtg tac tgc cag gag ctg aag tgc tgg	60	65	365
Glu Glu Gly Gln Val Cys Val Val Tyr Cys Gln Glu Leu Lys Cys Trp			
tgc agg gct ctg att aag tcc atc atc tct tct gca gac cat tac ctg	75	80	413
Cys Arg Ala Leu Ile Lys Ser Ile Ile Ser Ser Ala Asp His Tyr Leu			
gca gag tgt ttc ctg gtc gat ttt gcc aag tat att cca gta aaa tct	90	95	461
Ala Glu Cys Phe Leu Val Asp Phe Ala Lys Tyr Ile Pro Val Lys Ser			
aaa aac atc cga gtt gca gta gag tct ttt atg cag ctt cct tac aga	110	115	509
Lys Asn Ile Arg Val Ala Val Glu Ser Phe Met Gln Leu Pro Tyr Arg			
gca aaa aaa ttc aga ctt tac ggt aca aag cct gtg aca ttg cac att	125	130	557
Ala Lys Lys Phe Arg Leu Tyr Gly Thr Lys Pro Val Thr Leu His Ile			
gac ttc tgt gaa gac aat gct gag att gta cct gcc aca aaa tgg gac	140	145	605
Asp Phe Cys Glu Asp Asn Ala Glu Ile Val Pro Ala Thr Lys Trp Asp			
agt gca gcc atc cag tac ttt cag aac ctt cta aga gca act acc caa	155	160	653
Ser Ala Ala Ile Gln Tyr Phe Gln Asn Leu Leu Arg Ala Thr Thr Gln			
gtg gaa gca aaa cta tgt gcg gtg gaa gaa gat act ttt gag gtt tac	170	175	701
Val Glu Ala Lys Leu Cys Ala Val Glu Glu Asp Thr Phe Glu Val Tyr			
ctt tat gca aca ata aaa aat gaa aaa gtt tgt gtt aat gat gac cta	180	185	749



gca gac ctg aag aag gtg aac atg ttc tta aag cca gac tcc 1367  
 Ala Asp Leu Lys Lys Val Asn Met Phe Leu Lys Pro Asp Ser  
 395 400 405

tgacgacatg ccagccctt ccaacacaga gtgttgctt gtttgctt gtctgttctg 1427  
 ttctaagagt gacggggatg aaatacaggg cttgcgcgt cctggcatg cattcatcac 1487  
 tgaaccatac cccaattcca taggaggatt taaaataaac acttctaagg ctacattgca 1547  
 gaattcttgc tcc 1560

<210> 28  
 <211> 407  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 28  
 Met Phe Glu Val Leu Val Leu Lys Ile Glu Asp Pro Gly Cys Phe Trp 15  
 1 5 10 15

Val Ile Ile Lys Gly Cys Ser His Phe Leu Glu Gln Glu Val Asp Tyr 30  
 20 25 30

Gln Lys Leu Asn Thr Ala Met Asn Asp Phe Tyr Asn Ser Met Cys Gln 45  
 35 40 45

Asp Val Glu Met Lys Pro Leu Met Leu Glu Glu Gly Gln Val Cys Val 60  
 50 55 60

Val Tyr Cys Gln Glu Leu Lys Cys Trp Cys Arg Ala Leu Ile Lys Ser 80  
 65 70 75 80

Ile Ile Ser Ser Ala Asp His Tyr Leu Ala Glu Cys Phe Leu Val Asp 95  
 85 90 95

Phe Ala Lys Tyr Ile Pro Val Lys Ser Lys Asn Ile Arg Val Ala Val 110  
 100 105 110

Glu Ser Phe Met Gln Leu Pro Tyr Arg Ala Lys Lys Phe Arg Leu Tyr 125  
 115 120 125

Gly Thr Lys Pro Val Thr Leu His Ile Asp Phe Cys Glu Asp Asn Ala 140  
 130 135 140

Glu Ile Val Pro Ala Thr Lys Trp Asp Ser Ala Ala Ile Gln Tyr Phe 160  
 145 150 155 160

Gln Asn Leu Leu Arg Ala Thr Thr Gln Val Glu Ala Lys Leu Cys Ala  
 165 170 175  
 Val Glu Glu Asp Thr Phe Glu Val Tyr Leu Tyr Ala Thr Ile Lys Asn  
 180 185 190  
 Glu Lys Val Cys Val Asn Asp Asp Leu Val Ala Lys Asn Phe Ala Tyr  
 195 200 205  
 Tyr Val Ser Pro Met Gly Asn Lys Asn Leu Asn Pro Leu Glu Lys Pro  
 210 215 220  
 Arg Gln Ser Leu Asn Ser Val Thr Cys Ser Ser Lys Leu Ser Pro Ser  
 225 230 235 240  
 Leu Thr Leu Trp Pro Met Leu Leu Gln Gly Lys Asp Tyr His Arg Met  
 245 250 255  
 Glu Asn Lys Ala Leu Asn Tyr Lys Asp Ser Leu Thr Asp Ser Pro Lys  
 260 265 270  
 Met Met Leu Glu Lys Gln Gln Ser Leu Pro Leu Lys His Thr Glu  
 275 280 285  
 Lys Cys Thr Glu Ser Ser Val Tyr Trp Pro Thr Lys Arg Gly Ile Thr  
 290 295 300  
 Ile Tyr Ala Asp Pro Asp Val Pro Ser Val Ser Gly Ser Ser Gln Arg  
 305 310 315 320  
 Pro Asn Glu Lys Pro Leu Arg Leu Thr Glu Lys Lys Asp Cys Asp Glu  
 325 330 335  
 Lys Asn Gly Cys Val Lys Leu Leu Gln Phe Leu Asn Pro Asp Pro Leu  
 340 345 350  
 Arg Ala Asp Gly Thr Ser Asp Leu His Gln Leu Gln Lys Val Lys Leu  
 355 360 365  
 Gly Thr Leu Gln Pro Gly Val Val Leu Arg Asn Arg Ile Glu Pro Cys  
 370 375 380  
 Leu Thr Leu Glu Lys Ser Pro Leu Ser Ala Asp Leu Lys Lys Val Asn  
 385 390 395 400  
 Met Phe Leu Lys Pro Asp Ser  
 405

<210> 29  
<211> 1301  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> CDS  
<222> (97)..(1167)

<400> 29  
ttacagattg aagatccagg ttgcttctgg gttattataa aagggtgttag tccctttta 60  
gatcatgatg tcgattatca aaaattaaat agtgcc atg aat gac ttc tac aac 114  
Met Asn Asp Phe Tyr Asn  
1 5  
agc acg tgt caa gat ata gaa ata aaa ccc tta aca ttg gaa gaa gga 162  
Ser Thr Cys Gln Asp Ile Glu Ile Lys Pro Leu Thr Leu Glu Glu Gly  
10 15 20  
cag gtg tgt gtg gtc tat tgt gag gag cta aag tgc tgg tgc agg gcc 210  
Gln Val Cys Val Val Tyr Cys Glu Glu Leu Lys Cys Trp Cys Arg Ala  
25 30 35  
att gtc aaa tca att acg tct tcc gca gac cag tac ctg gca gaa tgt 258  
Ile Val Lys Ser Ile Thr Ser Ser Ala Asp Gln Tyr Leu Ala Glu Cys  
40 45 50  
ttc ctt gtg gac ttt gcc aag aac att cca gtc aaa tct aaa agc atc 306  
Phe Leu Val Asp Phe Ala Lys Asn Ile Pro Val Lys Ser Lys Ser Ile  
55 60 65 70  
cga gtt gta gta gaa tcg ttt atg cag ctt ccc tat aga gca aaa aaa 354  
Arg Val Val Val Glu Ser Phe Met Gln Leu Pro Tyr Arg Ala Lys Lys  
75 80 85  
ttc agc ctg tac tgc aca aag cct gtc aca tta cac att gac ttc tgc 402  
Phe Ser Leu Tyr Cys Thr Lys Pro Val Thr Leu His Ile Asp Phe Cys  
90 95 100  
cga gac agt act gac att gtg cct gcc aag aag tgg gac aat gca gct 450  
Arg Asp Ser Thr Asp Ile Val Pro Ala Lys Lys Trp Asp Asn Ala Ala  
105 110 115  
att cag tac ttt cag aac ctt ctg aaa gca act acc cag gtg gaa gcc 498  
Ile Gln Tyr Phe Gln Asn Leu Leu Lys Ala Thr Thr Gln Val Glu Ala  
120 125 130  
aga tta tgt gct gtg gaa gaa gat aca ttt gag gtt tac ctt tat gta 546  
Arg Leu Cys Ala Val Glu Glu Asp Thr Phe Glu Val Tyr Leu Tyr Val

135	140	145	150	
act ata aaa gat gaa aaa gtt tgt gtt aat gat gat ctt gtt gca aag Thr Ile Lys Asp Glu Lys Val Cys Val Asn Asp Asp Leu Val Ala Lys 155		160		594
		165		
aac tat gct tgt tat atg tca cct aca aag aat aaa aac ctt gat tat Asn Tyr Ala Cys Tyr Met Ser Pro Thr Lys Asn Lys Asn Leu Asp Tyr 170		175	180	642
tta gaa aaa cca aga ttg aat ata aaa tca gca ccc tcc ttc aat aaa Leu Glu Lys Pro Arg Leu Asn Ile Lys Ser Ala Pro Ser Phe Asn Lys 185		190		690
		195		
ctc aat cca gca ctt aca ctc tgg cca atg ttt ttg caa gga aaa gat Leu Asn Pro Ala Leu Thr Leu Trp Pro Met Phe Leu Gln Gly Lys Asp 200		205	210	738
gtt caa gga atg gaa gat tca cat ggt gta aat ttt ccg gca caa tct Val Gln Gly Met Glu Asp Ser His Gly Val Asn Phe Pro Ala Gln Ser 215		220		786
		225		230
ctg caa cat aca tgg tgc aag ggt att gtc ggt gac ctc agg cca aca Leu Gln His Thr Trp Cys Lys Gly Ile Val Gly Asp Leu Arg Pro Thr 235		240		834
		245		
gcc aca gca cag gac aaa gct gta aaa tgt aat atg gat tca ttg aga Ala Thr Ala Gln Asp Lys Ala Val Lys Cys Asn Met Asp Ser Leu Arg 250		255		882
		260		
gat tca cct aaa gac aaa tct gaa aag aaa cac cat tgc atc tct tta Asp Ser Pro Lys Asp Lys Ser Glu Lys Lys His His Cys Ile Ser Leu 265		270		930
		275		
aaa gat aca aat aag cgt gtt gaa tcc tca gtg tac tgg cca gca aaa Lys Asp Thr Asn Lys Arg Val Glu Ser Ser Val Tyr Trp Pro Ala Lys 280		285		978
		290		
aga ggc ata acc ata tat gct gat cca gat gta cca gaa gca agt gct Arg Gly Ile Thr Ile Tyr Ala Asp Pro Asp Val Pro Glu Ala Ser Ala 295		300		1026
		305		310
tta agt cag aag tca aat gag aaa cct ctt aga ttg act gag aag aaa Leu Ser Gln Lys Ser Asn Glu Lys Pro Leu Arg Leu Thr Glu Lys Lys 315		320		1074
		325		
gaa tat gat gag aat agc tgt gtg aaa tta ctg cag ttt tta aat Glu Tyr Asp Glu Lys Asn Ser Cys Val Lys Leu Leu Gln Phe Leu Asn 330		335		1122
		340		

cct gat cct ttg aga gct gac gga atc tct gat ctc cag cag act 1167  
 Pro Asp Pro Leu Arg Ala Asp Gly Ile Ser Asp Leu Gln Gln Thr  
 345 350 355

tgagattaga agagaaaactc ctttagatggg ggacttaacc tgaagacatc cttagaaaa 1227  
 cgatcgaatg gattgttgct tctgagaaat tgcccttgt ttttggata ataaacgatc 1287  
 ttcctttgg taaa 1301

<210> 30  
 <211> 357  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 30  
 Met Asn Asp Phe Tyr Asn Ser Thr Cys Gln Asp Ile Glu Ile Lys Pro  
 1 5 10 15

Leu Thr Leu Glu Glu Gly Gln Val Cys Val Val Tyr Cys Glu Glu Leu  
 20 25 30

Lys Cys Trp Cys Arg Ala Ile Val Lys Ser Ile Thr Ser Ser Ala Asp  
 35 40 45

Gln Tyr Leu Ala Glu Cys Phe Leu Val Asp Phe Ala Lys Asn Ile Pro  
 50 55 60

Val Lys Ser Lys Ser Ile Arg Val Val Val Glu Ser Phe Met Gln Leu  
 65 70 75 80

Pro Tyr Arg Ala Lys Lys Phe Ser Leu Tyr Cys Thr Lys Pro Val Thr  
 85 90 95

Leu His Ile Asp Phe Cys Arg Asp Ser Thr Asp Ile Val Pro Ala Lys  
 100 105 110

Lys Trp Asp Asn Ala Ala Ile Gln Tyr Phe Gln Asn Leu Leu Lys Ala  
 115 120 125

Thr Thr Gln Val Glu Ala Arg Leu Cys Ala Val Glu Glu Asp Thr Phe  
 130 135 140

Glu Val Tyr Leu Tyr Val Thr Ile Lys Asp Glu Lys Val Cys Val Asn  
 145 150 155 160

Asp Asp Leu Val Ala Lys Asn Tyr Ala Cys Tyr Met Ser Pro Thr Lys  
 165 170 175

Asn Lys Asn Leu Asp Tyr Leu Glu Lys Pro Arg Leu Asn Ile Lys Ser  
 180 185 190  
  
 Ala Pro Ser Phe Asn Lys Leu Asn Pro Ala Leu Thr Leu Trp Pro Met  
 195 200 205  
  
 Phe Leu Gln Gly Lys Asp Val Gln Gly Met Glu Asp Ser His Gly Val  
 210 215 220  
  
 Asn Phe Pro Ala Gln Ser Leu Gln His Thr Trp Cys Lys Gly Ile Val  
 225 230 235 240  
  
 Gly Asp Leu Arg Pro Thr Ala Thr Ala Gln Asp Lys Ala Val Lys Cys  
 245 250 255  
  
 Asn Met Asp Ser Leu Arg Asp Ser Pro Lys Asp Lys Ser Glu Lys Lys  
 260 265 270  
  
 His His Cys Ile Ser Leu Lys Asp Thr Asn Lys Arg Val Glu Ser Ser  
 275 280 285  
  
 Val Tyr Trp Pro Ala Lys Arg Gly Ile Thr Ile Tyr Ala Asp Pro Asp  
 290 295 300  
  
 Val Pro Glu Ala Ser Ala Leu Ser Gln Lys Ser Asn Glu Lys Pro Leu  
 305 310 315 320  
  
 Arg Leu Thr Glu Lys Lys Glu Tyr Asp Glu Lys Asn Ser Cys Val Lys  
 325 330 335  
  
 Leu Leu Gln Phe Leu Asn Pro Asp Pro Leu Arg Ala Asp Gly Ile Ser  
 340 345 350  
  
 Asp Leu Gln Gln Thr  
 355

<210> 31  
 <211> 1280  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (122)..(1219)

<400> 31  
 tgagggcgtg agaagagagc aattcacact tgattagctc ccaggctcct gaattgagca 60

gaggaggcta gaccgctgag ctgcgcaccc cagaggctgc tctaccctgg ctcagacgac 120  
 c atg cag cct tat caa cgg ctt ctg gcg ctt ggc ttc ctt ctg tta acc 169  
 Met Gln Pro Tyr Gln Arg Leu Leu Ala Leu Gly Phe Leu Leu Thr  
 1 5 10 15

ctg ccc tgg ggc cag aca tcc gag ttt caa gac tct gac ctt ttg cag 217  
 Leu Pro Trp Gly Gln Thr Ser Glu Phe Gln Asp Ser Asp Leu Leu Gln  
 20 25 30

ttt ctg gga tta gag aaa gcg cct tca cct cac agg ttc caa cct gtg 265  
 Phe Leu Gly Leu Glu Lys Ala Pro Ser Pro His Arg Phe Gln Pro Val  
 35 40 45

cct cgc gtc tta agg aaa atc atc cgg gct cga gaa gcc gct gca gcc 313  
 Pro Arg Val Leu Arg Lys Ile Ile Arg Ala Arg Glu Ala Ala Ala  
 50 55 60

agt ggg gcc tcg cag gac tta tgc tac gtg aag gag ctg ggt gtt cgt 361  
 Ser Gly Ala Ser Gln Asp Leu Cys Tyr Val Lys Glu Leu Gly Val Arg  
 65 70 75 80

ggg aac ctg ctt cag ctt ctc cca gac cag ggt ttt ttc ctt aat aca 409  
 Gly Asn Leu Leu Gln Leu Leu Pro Asp Gln Gly Phe Phe Leu Asn Thr  
 85 90 95

cag aaa cct ttc caa gat ggc tcc tgt ctc cag aag gtc ctc tat ttt 457  
 Gln Lys Pro Phe Gln Asp Gly Ser Cys Leu Gln Lys Val Leu Tyr Phe  
 100 105 110

aac ttg tct gcc atc aaa gaa aag gca aag ttg acc atg gcc cag ctg 505  
 Asn Leu Ser Ala Ile Lys Glu Lys Ala Lys Leu Thr Met Ala Gln Leu  
 115 120 125

act cta gac ttg ggg ccc agg tcc tac tat aac ctg cga cca gag ctg 553  
 Thr Leu Asp Leu Gly Pro Arg Ser Tyr Tyr Asn Leu Arg Pro Glu Leu  
 130 135 140

gtg gtt gct ctg tct gtg gtt cag gac cgg ggc gtg tgg ggg cga tcc 601  
 Val Val Ala Leu Ser Val Val Gln Asp Arg Gly Val Trp Gly Arg Ser  
 145 150 155 160

cac cct aag gtg ggc aga ttg ctt ttt ctg cgg tct gtc cct ggg cct 649  
 His Pro Lys Val Gly Arg Leu Leu Phe Leu Arg Ser Val Pro Gly Pro  
 165 170 175

caa ggt cag ctc cag ttc aac ctg cag ggt gcg ctt aag gat tgg agc 697  
 Gln Gly Gln Leu Gln Phe Asn Leu Gln Gly Ala Leu Lys Asp Trp Ser  
 180 185 190

agc aac cga ctg aag aat ttg gac tta cac tta gag att ttg gtc aaa Ser Asn Arg Leu Lys Asn Leu Asp Leu His Leu Glu Ile Leu Val Lys 195 200 205	745
gag gac aga tac tcc agg gta act gtc cag ccc gag aac ccc tgt gac Glu Asp Arg Tyr Ser Arg Val Thr Val Gln Pro Glu Asn Pro Cys Asp 210 215 220	793
ccg ctg ctc cgc tct cta cat gcc tcg ctg gtg gta acc ctc aat Pro Leu Leu Arg Ser Leu His Ala Ser Leu Leu Val Val Thr Leu Asn 225 230 235 240	841
cct aaa cac tgt cat cct tct tcc aga aaa agg agg gcg gcc atc tct Pro Lys His Cys His Pro Ser Ser Arg Lys Arg Arg Ala Ala Ile Ser 245 250 255	889
gtc ccc aag ggt ttc tgt agg aac ttc tgc cac cgt cat cag ctg ttc Val Pro Lys Gly Phe Cys Arg Asn Phe Cys His Arg His Gln Leu Phe 260 265 270	937
atc aac ttc cag gac ctg ggt tgg cac aag tgg gtc atc gcc cct aag Ile Asn Phe Gln Asp Leu Gly Trp His Lys Trp Val Ile Ala Pro Lys 275 280 285	985
ggg ttc atg gca aat tac tgt cat gga gag tgc ccc ttc tca atg acc Gly Phe Met Ala Asn Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Ser Met Thr 290 295 300	1033
acg tat tta aat agt tcc aat tat gct ttc atg cag gct ctg atg cat Thr Tyr Leu Asn Ser Ser Asn Tyr Ala Phe Met Gln Ala Leu Met His 305 310 315 320	1081
atg gct gac ccc aag gtc ccc aag gct gtc tgt gtc ccc acc aag ctc Met Ala Asp Pro Lys Val Pro Lys Ala Val Cys Val Pro Thr Lys Leu 325 330 335	1129
tcg ccc atc tcc atg ctc tat cag gat agt gat aag aac gtc att ctc Ser Pro Ile Ser Met Leu Tyr Gln Asp Ser Asp Lys Asn Val Ile Leu 340 345 350	1177
cga cat tat gaa gac atg gta gtc gat gag tgt ggg tgt ggg Arg His Tyr Glu Asp Met Val Val Asp Glu Cys Gly Cys Gly 355 360 365	1219
tagtctcgaa actaggctag gagtgtgctt agggtaatac cttaataaaa actaccaccc	1279
c	1280

<211> 366

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 32

Met Gln Pro Tyr Gln Arg Leu Leu Ala Leu Gly Phe Leu Leu Leu Thr  
1 5 10 15

Leu Pro Trp Gly Gln Thr Ser Glu Phe Gln Asp Ser Asp Leu Leu Gln  
20 25 30

Phe Leu Gly Leu Glu Lys Ala Pro Ser Pro His Arg Phe Gln Pro Val  
35 40 45

Pro Arg Val Leu Arg Lys Ile Ile Arg Ala Arg Glu Ala Ala Ala Ala  
50 55 60

Ser Gly Ala Ser Gln Asp Leu Cys Tyr Val Lys Glu Leu Gly Val Arg  
65 70 75 80

Gly Asn Leu Leu Gln Leu Leu Pro Asp Gln Gly Phe Phe Leu Asn Thr  
85 90 95

Gln Lys Pro Phe Gln Asp Gly Ser Cys Leu Gln Lys Val Leu Tyr Phe  
 100 105 110

Asn Leu Ser Ala Ile Lys Glu Lys Ala Lys Leu Thr Met Ala Gln Leu  
115 120 125

Thr Leu Asp Leu Gly Pro Arg Ser Tyr Tyr Asn Leu Arg Pro Glu Leu  
130 135 140

Val Val Ala Leu Ser Val Val Gln Asp Arg Gly Val Trp Gly Arg Ser  
145 150 155 160

His Pro Lys Val Gly Arg Leu Leu Phe Leu Arg Ser Val Pro Gly Pro  
165 170 175

Gln Gly Gln Leu Gln Phe Asn Leu Gln Gly Ala Leu Lys Asp Trp Ser  
180 185 190

Ser Asn Arg Leu Lys Asn Leu Asp Leu His Leu Glu Ile Leu Val Lys  
195 200 205

Glu Asp Arg Tyr Ser Arg Val Thr Val Gln Pro Glu Asn Pro Cys Asp  
210 215 220

Pro Leu Leu Arg Ser Leu His Ala Ser Leu Leu Val Val Thr Leu Asn  
225 230 235 240

Pro Lys His Cys His Pro Ser Ser Arg Lys Arg Arg Ala Ala Ile Ser  
245 250 255

Val Pro Lys Gly Phe Cys Arg Asn Phe Cys His Arg His Gln Leu Phe  
260 265 270

Ile Asn Phe Gln Asp Leu Gly Trp His Lys Trp Val Ile Ala Pro Lys  
275 280 285

Gly Phe Met Ala Asn Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Ser Met Thr  
290 295 300

Thr Tyr Leu Asn Ser Ser Asn Tyr Ala Phe Met Gln Ala Leu Met His  
305 310 315 320

Met Ala Asp Pro Lys Val Pro Lys Ala Val Cys Val Pro Thr Lys Leu  
325 330 335

Ser Pro Ile Ser Met Leu Tyr Gln Asp Ser Asp Lys Asn Val Ile Leu  
340 345 350

Arg His Tyr Glu Asp Met Val Val Asp Glu Cys Gly Cys Gly  
355 360 365

<210> 33

<211> 1224

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (37)..(1128)

<400> 33

ggagctctcc ccggctgtac agccactcca gaggcc atg ctt cgt ttc ttg cca 54  
Met Leu Arg Phe Leu Pro  
1 5

gat ttg gct ttc agc ttc ctg tta att ctg gct ttg ggc cag gca gtc 102  
Asp Leu Ala Phe Ser Phe Leu Leu Ile Leu Ala Leu Gly Gln Ala Val  
10 15 20

caa ttt caa gaa tat gtc ttt ctc caa ttt ctg ggc tta gat aag gcg 150  
Gln Phe Gln Glu Tyr Val Phe Leu Gln Phe Leu Gly Leu Asp Lys Ala  
25 30 35

cct tca ccc cag aag ttc caa cct gtg cct tat atc ttg aag aaa att 198  
Pro Ser Pro Gln Lys Phe Gln Pro Val Pro Tyr Ile Leu Lys Lys Ile

40	45	50	
ttc cag gat cgc gag gca gca gcg acc act ggg gtc tcc cga gac tta Phe Gln Asp Arg Glu Ala Ala Ala Thr Thr Gly Val Ser Arg Asp Leu 55	60	65	70 246
tgc tac gta aag gag ctg ggc gtc cgc ggg aat gta ctt cgc ttt ctc Cys Tyr Val Lys Glu Leu Gly Val Arg Gly Asn Val Leu Arg Phe Leu 75	80		85 294
cca gac caa ggt ttc ttt ctt tac cca aag aaa att tcc caa gct tcc Pro Asp Gln Gly Phe Phe Leu Tyr Pro Lys Lys Ile Ser Gln Ala Ser 90	95		100 342
tcc tgc ctg cag aag ctc ctc tac ttt aac ctg tct gcc atc aaa gaa Ser Cys Leu Gln Lys Leu Leu Tyr Phe Asn Leu Ser Ala Ile Lys Glu 105	110	115	390
agg gaa cag ttg aca ttg gcc cag ctg ggc ctg gac ttg ggg ccc aat Arg Glu Gln Leu Thr Leu Ala Gln Leu Gly Leu Asp Leu Gly Pro Asn 120	125	130	438
tct tac tat aac ctg gga cca gag ctg gaa ctg gct ctg ttc ctg gtt Ser Tyr Tyr Asn Leu Gly Pro Glu Leu Glu Leu Ala Leu Phe Leu Val 135	140	145	150 486
cag gag cct cat gtg tgg ggc cag acc acc cct aag cca ggt aaa atg Gln Glu Pro His Val Trp Gly Gln Thr Pro Lys Pro Gly Lys Met 155	160		165 534
ttt gtg ttg cgg tca gtc cca tgg cca caa ggt gct gtt cac ttc aac Phe Val Leu Arg Ser Val Pro Trp Pro Gln Gly Ala Val His Phe Asn 170	175		180 582
ctg ctg gat gta gct aag gat tgg aat gac aac ccc cgaaaaaat ttc Leu Leu Asp Val Ala Lys Asp Trp Asn Asp Asn Pro Arg Lys Asn Phe 185	190	195	630
ggg tta ttc ctg gag ata ctg gtc aaa gaa gat aga gac tca ggg gtg Gly Leu Phe Leu Glu Ile Leu Val Lys Glu Asp Arg Asp Ser Gly Val 200	205	210	678
aat ttt cag cct gaa gac acc tgt gcc aga cta aga tgc tcc ctt cat Asn Phe Gln Pro Glu Asp Thr Cys Ala Arg Leu Arg Cys Ser Leu His 215	220	225	230 726
gct tcc ctg ctg gtg gtg act ctc aac cct gat cag tgc cac cct tct Ala Ser Leu Leu Val Val Thr Leu Asn Pro Asp Gln Cys His Pro Ser 235	240	245	774

cgaaaaaaggaga gca gcc atc cct gtc ccc aag ctt tct tgt aag aac 822  
 Arg Lys Arg Arg Ala Ala Ile Pro Val Pro Lys Leu Ser Cys Lys Asn  
 250 255 260

ctc tgc cac cgt cac cag cta ttc att aac ttc cgga gac ctg ggt tgg 870  
 Leu Cys His Arg His Gln Leu Phe Ile Asn Phe Arg Asp Leu Gly Trp  
 265 270 275

cac aag tgg atc att gcc ccc aag ggg ttc atg gca aat tac tgc cat 918  
 His Lys Trp Ile Ile Ala Pro Lys Gly Phe Met Ala Asn Tyr Cys His  
 280 285 290

gga gag tgt ccc ttc tca ctg acc atc tct ctc aac agc tcc aat tat 966  
 Gly Glu Cys Pro Phe Ser Leu Thr Ile Ser Leu Asn Ser Ser Asn Tyr  
 295 300 305 310

gct ttc atg caa gcc ctg atg cat gcc gtt gac cca gag atc ccc cag 1014  
 Ala Phe Met Gln Ala Leu Met His Ala Val Asp Pro Glu Ile Pro Gln  
 315 320 325

gct gtg tgt atc ccc acc aag ctg tct ccc att tcc atg ctc tac cag 1062  
 Ala Val Cys Ile Pro Thr Lys Leu Ser Pro Ile Ser Met Leu Tyr Gln  
 330 335 340

gac aat aat gac aat gtc att cta cga cat tat gaa gac atg gta gtc 1110  
 Asp Asn Asn Asp Asn Val Ile Leu Arg His Tyr Glu Asp Met Val Val  
 345 350 355

gat gaa tgt ggg tgt ggg taggatgtca gaaatggaa tagaaggagt 1158  
 Asp Glu Cys Gly Cys Gly  
 360

gttcttaggg taaatcttt aataaaacta cctatcttgtt ttatgaccac ttagatcgaa 1218

atgtca 1224

<210> 34  
 <211> 364  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 34  
 Met Leu Arg Phe Leu Pro Asp Leu Ala Phe Ser Phe Leu Leu Ile Leu  
 1 5 10 15

Ala Leu Gly Gln Ala Val Gln Phe Gln Glu Tyr Val Phe Leu Gln Phe  
 20 25 30

Leu Gly Leu Asp Lys Ala Pro Ser Pro Gln Lys Phe Gln Pro Val Pro

35

40

45

Tyr Ile Leu Lys Lys Ile Phe Gln Asp Arg Glu Ala Ala Ala Thr Thr  
 50 55 60

Gly Val Ser Arg Asp Leu Cys Tyr Val Lys Glu Leu Gly Val Arg Gly  
 65 70 75 80

Asn Val Leu Arg Phe Leu Pro Asp Gln Gly Phe Phe Leu Tyr Pro Lys  
 85 90 95

Lys Ile Ser Gln Ala Ser Ser Cys Leu Gln Lys Leu Leu Tyr Phe Asn  
 100 105 110

Leu Ser Ala Ile Lys Glu Arg Glu Gln Leu Thr Leu Ala Gln Leu Gly  
 115 120 125

Leu Asp Leu Gly Pro Asn Ser Tyr Tyr Asn Leu Gly Pro Glu Leu Glu  
 130 135 140

Leu Ala Leu Phe Leu Val Gln Glu Pro His Val Trp Gly Gln Thr Thr  
 145 150 155 160

Pro Lys Pro Gly Lys Met Phe Val Leu Arg Ser Val Pro Trp Pro Gln  
 165 170 175

Gly Ala Val His Phe Asn Leu Leu Asp Val Ala Lys Asp Trp Asn Asp  
 180 185 190

Asn Pro Arg Lys Asn Phe Gly Leu Phe Leu Glu Ile Leu Val Lys Glu  
 195 200 205

Asp Arg Asp Ser Gly Val Asn Phe Gln Pro Glu Asp Thr Cys Ala Arg  
 210 215 220

Leu Arg Cys Ser Leu His Ala Ser Leu Leu Val Val Thr Leu Asn Pro  
 225 230 235 240

Asp Gln Cys His Pro Ser Arg Lys Arg Arg Ala Ala Ile Pro Val Pro  
 245 250 255

Lys Leu Ser Cys Lys Asn Leu Cys His Arg His Gln Leu Phe Ile Asn  
 260 265 270

Phe Arg Asp Leu Gly Trp His Lys Trp Ile Ile Ala Pro Lys Gly Phe  
 275 280 285

Met Ala Asn Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Ser Leu Thr Ile Ser  
 290 295 300

Leu Asn Ser Ser Asn Tyr Ala Phe Met Gln Ala Leu Met His Ala Val  
 305 310 315 320

Asp Pro Glu Ile Pro Gln Ala Val Cys Ile Pro Thr Lys Leu Ser Pro  
 325 330 335

Ile Ser Met Leu Tyr Gln Asp Asn Asn Asp Asn Val Ile Leu Arg His  
 340 345 350

Tyr Glu Asp Met Val Val Asp Glu Cys Gly Cys Gly  
 355 360

<210> 35

<211> 1248

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (32)..(1003)

<400> 35

agtggatccc ccgggctgca ggaattccgg g atg gat cct cga acc tgg cta	52
Met Asp Pro Arg Thr Trp Leu	
1	5

agc ttc caa ggg cct cca ggt ggg cct gga atc gga cca ggc tca gag	100	
Ser Phe Gln Gly Pro Pro Gly Gly Pro Gly Ile Gly Pro Gly Ser Glu		
10	15	20

gta ttg ggg atc tcc cca tgt ccg ccc gca tac gag ttc tgc gga ggg	148	
Val Leu Gly Ile Ser Pro Cys Pro Pro Ala Tyr Glu Phe Cys Gly Gly		
25	30	35

atg gca tac tgt gga cct cag gtt ggt ctg ggc cta gtc ccc caa gtt	196		
Met Ala Tyr Cys Gly Pro Gln Val Gly Leu Gly Leu Val Pro Gln Val			
40	45	50	55

ggc gtg gag act ttg cag cct gag ggc cag gca gga gca cga gtg gaa	244	
Gly Val Glu Thr Leu Gln Pro Glu Gly Gln Ala Gly Ala Arg Val Glu		
60	65	70

agc aac tca gag gga acc tcc tct gag ccc tgt gcc gac cgc ccc aat	292	
Ser Asn Ser Glu Gly Thr Ser Ser Glu Pro Cys Ala Asp Arg Pro Asn		
75	80	85

gcc gtg aag ttg gag aag gtg gaa cca act ccc gag gag tcc cag gac	340
Ala Val Lys Leu Glu Lys Val Glu Pro Thr Pro Glu Glu Ser Gln Asp	

90	95	100	
atg aaa gcc ctg cag aag gag cta gaa cag ttt gcc aag ctg ctg aag Met Lys Ala Leu Gln Lys Glu Leu Glu Gln Phe Ala Lys Leu Leu Lys 105 110 115			388
cag aag agg atc acc ttg ggg tac acc cag gcc gac gtg ggg ctc acc Gln Lys Arg Ile Thr Leu Gly Tyr Thr Gln Ala Asp Val Gly Leu Thr 120 125 130 135			436
ctg ggc gtt ctc ttt gga aag gtg ttc agc cag acc acc atc tgt cgc Leu Gly Val Leu Phe Gly Lys Val Phe Ser Gln Thr Thr Ile Cys Arg 140 145 150			484
ttc gag gcc ttg cag ctc agc ctt aag aac atg tgt aag ctg cgccccc Phe Glu Ala Leu Gln Leu Ser Leu Lys Asn Met Cys Lys Leu Arg Pro 155 160 165			532
ctg ctg gag aag tgg gtg gag gaa gcc gac aac aat gag aac ctt cag Leu Leu Glu Lys Trp Val Glu Ala Asp Asn Asn Glu Asn Leu Gln 170 175 180			580
gag ata tgc aaa tcg gag acc ctg gtg cag gcc cgaaagaaaggaaaggaa Glu Ile Cys Lys Ser Glu Thr Leu Val Gln Ala Arg Lys Arg Lys Arg 185 190 195			628
act agc att gag aac cgt gtg agg tgg agt ctg gag acc atg ttt ctg Thr Ser Ile Glu Asn Arg Val Arg Trp Ser Leu Glu Thr Met Phe Leu 200 205 210 215			676
aag tgc ccg aag ccc tcc cta cag cag atc act cac atc gcc aat cag Lys Cys Pro Lys Pro Ser Leu Gln Gln Ile Thr His Ile Ala Asn Gln 220 225 230			724
ctt ggg cta gag aag gat gtg gtt cga gta tgg ttc tgt aac cgccgc Leu Gly Leu Glu Lys Asp Val Val Arg Val Trp Phe Cys Asn Arg Arg 235 240 245			772
cag aag ggc aaa aga tca agt att gag tat tcc caa cga gaa gag tat Gln Lys Gly Lys Arg Ser Ser Ile Glu Tyr Ser Gln Arg Glu Glu Tyr 250 255 260			820
gag gct aca ggg aca cct ttc cca ggg ggg gct gta tcc ttt cct ctg Glu Ala Thr Gly Thr Pro Phe Pro Gly Gly Ala Val Ser Phe Pro Leu 265 270 275			868
ccc cca ggt ccc cac ttt ggc acc cca ggc tat gga agc ccc cac ttc Pro Pro Gly Pro His Phe Gly Thr Pro Gly Tyr Gly Ser Pro His Phe 280 285 290 295			916

gtt ccc gtc act gct ctg ggc tct ccc atg cat tca aac tgaggcacca 1013  
Val Pro Val Thr Ala Leu Gly Ser Pro Met His Ser Asn  
315 320

gccctccctg gggatgctgt gagccaaggc aagggaggtt gacaagagaa cctggagtt 1073

tgggttaaa ttctttact gaggagggat taaaagcaca acaggggtgg ggggtggat 1133

ggggaaagaa gctcagtatgat gctgttgatc aggaggcctgg cctgtctgtc actcatcatt 1193

ttgttcttaa ataaagactg ggacacacag taaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaac tcgag 1248

<210> 36

<211> 324

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 36

Met Asp Pro Arg Thr Trp Leu Ser Phe Gln Gly Pro Pro Gly Gly Pro  
1 5 10 15

Gly Ile Gly Pro Gly Ser Glu Val Leu Gly Ile Ser Pro Cys Pro Pro  
20 25 30

Ala Tyr Glu Phe Cys Gly Gly Met Ala Tyr Cys Gly Pro Gln Val Gly  
35 40 45

Leu Gly Leu Val Pro Gln Val Gly Val Glu Thr Leu Gln Pro Glu Gly  
50 55 60

Gln Ala Gly Ala Arg Val Glu Ser Asn Ser Glu Gly Thr Ser Ser Glu  
 65 . 70 75 80

Thr Pro Glu Glu Ser Gln Asp Met Lys Ala Leu Gln Lys Glu Leu Glu  
100 105 110

Gln Phe Ala Lys Leu Leu Lys Gln Lys Arg Ile Thr Leu Gly Tyr Thr  
115 120 125

Ser Gln Thr Thr Ile Cys Arg Phe Glu Ala Leu Gln Leu Ser Leu Lys  
 145 150 155 160  
 Asn Met Cys Lys Leu Arg Pro Leu Leu Glu Lys Trp Val Glu Glu Ala  
 165 170 175  
 Asp Asn Asn Glu Asn Leu Gln Glu Ile Cys Lys Ser Glu Thr Leu Val  
 180 185 190  
 Gln Ala Arg Lys Arg Lys Arg Thr Ser Ile Glu Asn Arg Val Arg Trp  
 195 200 205  
 Ser Leu Glu Thr Met Phe Leu Lys Cys Pro Lys Pro Ser Leu Gln Gln  
 210 215 220  
 Ile Thr His Ile Ala Asn Gln Leu Gly Leu Glu Lys Asp Val Val Arg  
 225 230 235 240  
 Val Trp Phe Cys Asn Arg Arg Gln Lys Gly Lys Arg Ser Ser Ile Glu  
 245 250 255  
 Tyr Ser Gln Arg Glu Glu Tyr Glu Ala Thr Gly Thr Pro Phe Pro Gly  
 260 265 270  
 Gly Ala Val Ser Phe Pro Leu Pro Pro Gly Pro His Phe Gly Thr Pro  
 275 280 285  
 Gly Tyr Gly Ser Pro His Phe Thr Thr Leu Tyr Ser Val Pro Phe Pro  
 290 295 300  
 Glu Gly Glu Ala Phe Pro Ser Val Pro Val Thr Ala Leu Gly Ser Pro  
 305 310 315 320  
 Met His Ser Asn

<210> 37  
 <211> 1371  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (43)..(1122)

<400> 37  
 ctcatttcac caggcccccg gcttggggcg ctttccttcc cc atg gcg gga cac 54  
 Met Ala Gly His

ctg gct tcg gat ttc gcc ttc tcg ccc cct cca ggt ggt gga ggt gat	102
Leu Ala Ser Asp Phe Ala Phe Ser Pro Pro Pro Gly Gly Gly Gly Asp	
5 10 15 20	
ggg cca ggg ggg ccg gag ccg ggc tgg gtt gat cct cg acc tgg cta	150
Gly Pro Gly Pro Glu Pro Gly Trp Val Asp Pro Arg Thr Trp Leu	
25 30 35	
agc ttc caa ggc cct cct gga ggg cca gga atc ggg ccg ggg gtt ggg	198
Ser Phe Gln Gly Pro Pro Gly Gly Pro Gly Ile Gly Pro Gly Val Gly	
40 45 50	
cca ggc tct gag gtg tgg ggg att ccc cca tgc ccc ccg ccg tat gag	246
Pro Gly Ser Glu Val Trp Gly Ile Pro Pro Cys Pro Pro Tyr Glu	
55 60 65	
ttc tgt ggg ggg atg gcg tac tgt ggg ccc cag gtt gga gtg ggg cta	294
Phe Cys Gly Gly Met Ala Tyr Cys Gly Pro Gln Val Gly Val Gly Leu	
70 75 80	
gtg ccc caa ggc ggc ttg gag acc tct cag cct gag ggc gaa gca gga	342
Val Pro Gln Gly Gly Leu Glu Thr Ser Gln Pro Glu Gly Glu Ala Gly	
85 90 95 100	
gtc ggg gtg gag agc aac tcc gat ggg gcc tcc ccg gag ccc tgc acc	390
Val Gly Val Glu Ser Asn Ser Asp Gly Ala Ser Pro Glu Pro Cys Thr	
105 110 115	
gtc acc cct ggt gcc gtg aag ctg gag aag gag aag ctg gag caa aac	438
Val Thr Pro Gly Ala Val Lys Leu Glu Lys Glu Lys Leu Glu Gln Asn	
120 125 130	
ccg gag gag tcc cag gac atc aaa gct ctg cag aaa gaa ctc gag caa	486
Pro Glu Glu Ser Gln Asp Ile Lys Ala Leu Gln Lys Glu Leu Glu Gln	
135 140 145	
ttt gcc aag ctc ctg aag cag aag agg atc acc ctg gga tat aca cag	534
Phe Ala Lys Leu Leu Lys Gln Lys Arg Ile Thr Leu Gly Tyr Thr Gln	
150 155 160	
gcc gat gtg ggg ctc acc ctg ggg gtt cta ttt ggg aag gta ttc agc	582
Ala Asp Val Gly Leu Thr Leu Gly Val Leu Phe Gly Lys Val Phe Ser	
165 170 175 180	
caa acg acc atc tgc cgc ttt gag gct ctg cag ctt agc ttc aag aac	630
Gln Thr Thr Ile Cys Arg Phe Glu Ala Leu Gln Leu Ser Phe Lys Asn	
185 190 195	

atg tgt aag ctg cgg ccc ttg ctg cag aag tgg gtg gag gaa gct gac Met Cys Lys Leu Arg Pro Leu Leu Gln Lys Trp Val Glu Glu Ala Asp	678
200 205 210	
aac aat gaa aat ctt cag gag ata tgc aaa gca gaa acc ctc gtg cag Asn Asn Glu Asn Leu Gln Glu Ile Cys Lys Ala Glu Thr Leu Val Gln	726
215 220 225	
gcc cga aag aga aag cga acc agt atc gag aac cga gtg aga ggc aac Ala Arg Lys Arg Lys Arg Thr Ser Ile Glu Asn Arg Val Arg Gly Asn	774
230 235 240	
ctg gag aat ttg ttc ctg cag tgc ccg aaa ccc aca ctg cag cag atc Leu Glu Asn Leu Phe Leu Gln Cys Pro Lys Pro Thr Leu Gln Gln Ile	822
245 250 255 260	
agc cac atc gcc cag cag ctt ggg ctc gag aag gat gtg gtc cga gtg Ser His Ile Ala Gln Gln Leu Gly Leu Glu Lys Asp Val Val Arg Val	870
265 270 275	
tgg ttc tgt aac cgg cgc cag aag ggc aag cga tca agc agc gac tat Trp Phe Cys Asn Arg Arg Gln Lys Gly Lys Arg Ser Ser Asp Tyr	918
280 285 290	
gca caa cga gag gat ttt gag gct gct ggg tct cct ttc tca ggg gga Ala Gln Arg Glu Asp Phe Glu Ala Ala Gly Ser Pro Phe Ser Gly Gly	966
295 300 305	
cca gtg tcc ttt cct ctg gcc cca ggg ccc cat ttt ggt acc cca ggc Pro Val Ser Phe Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Phe Gly Thr Pro Gly	1014
310 315 320	
tat ggg agc cct cac ttc act gca ctg tac tcc tcg gtc cct ttc cct Tyr Gly Ser Pro His Phe Thr Ala Leu Tyr Ser Ser Val Pro Phe Pro	1062
325 330 335 340	
gag ggg gaa gcc ttt ccc cct gtc tct gtc acc act ctg ggc tct ccc Glu Gly Glu Ala Phe Pro Pro Val Ser Val Thr Thr Leu Gly Ser Pro	1110
345 350 355	
atg cat tca aac tgagggtgcct gcccttctag gaatggggga cagggggagg Met His Ser Asn	1162
360	
ggaggagcta gggaaagaaa acctggagtt tgtgccaggg tttttggatt aagttttca	1222
ttcactaagg aaggaattgg gaacacaaag ggtggggca gggagtttg gggcaactgg	1282
ttggaggaa ggtgaagttc aatgatgctc ttgatttaa tcccacatca tgtatcactt	1342

ttttcttaaa taaagaagct tggacaca

1371

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 360

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 38

Met	Ala	Gly	His	Leu	Ala	Ser	Asp	Phe	Ala	Phe	Ser	Pro	Pro	Pro	Gly
1				5					10				15		

Gly	Gly	Gly	Asp	Gly	Pro	Gly	Gly	Pro	Glu	Pro	Gly	Trp	Val	Asp	Pro
								25					30		

Arg	Thr	Trp	Leu	Ser	Phe	Gln	Gly	Pro	Pro	Gly	Gly	Pro	Gly	Ile	Gly
								35				45			

Pro	Gly	Val	Gly	Pro	Gly	Ser	Glu	Val	Trp	Gly	Ile	Pro	Pro	Cys	Pro
								50			55		60		

Pro	Pro	Tyr	Glu	Phe	Cys	Gly	Gly	Met	Ala	Tyr	Cys	Gly	Pro	Gln	Val
								65		70		75		80	

Gly	Val	Gly	Leu	Val	Pro	Gln	Gly	Gly	Leu	Glu	Thr	Ser	Gln	Pro	Glu
								85		90			95		

Gly	Glu	Ala	Gly	Val	Gly	Val	Glu	Ser	Asn	Ser	Asp	Gly	Ala	Ser	Pro
								100		105		110			

Glu	Pro	Cys	Thr	Val	Thr	Pro	Gly	Ala	Val	Lys	Leu	Glu	Lys	Glu	Lys
								115		120		125			

Leu	Glu	Gln	Asn	Pro	Glu	Glu	Ser	Gln	Asp	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Lys
								130		135		140			

Glu	Leu	Glu	Gln	Phe	Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Gln	Lys	Arg	Ile	Thr	Leu
								145		150		155		160	

Gly	Tyr	Thr	Gln	Ala	Asp	Val	Gly	Leu	Thr	Leu	Gly	Val	Leu	Phe	Gly
								165		170			175		

Lys	Val	Phe	Ser	Gln	Thr	Thr	Ile	Cys	Arg	Phe	Glu	Ala	Leu	Gln	Leu
								180		185		190			

Ser	Phe	Lys	Asn	Met	Cys	Lys	Leu	Arg	Pro	Leu	Leu	Gln	Lys	Trp	Val
								195		200		205			

Glu	Glu	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Asn	Leu	Gln	Glu	Ile	Cys	Lys	Ala	Glu
								210		215		220			

Thr Leu Val Gln Ala Arg Lys Arg Lys Arg Thr Ser Ile Glu Asn Arg  
 225 230 235 240  
 Val Arg Gly Asn Leu Glu Asn Leu Phe Leu Gln Cys Pro Lys Pro Thr  
 245 250 255  
 Leu Gln Gln Ile Ser His Ile Ala Gln Gln Leu Gly Leu Glu Lys Asp  
 260 265 270  
 Val Val Arg Val Trp Phe Cys Asn Arg Arg Gln Lys Gly Lys Arg Ser  
 275 280 285  
 Ser Ser Asp Tyr Ala Gln Arg Glu Asp Phe Glu Ala Ala Gly Ser Pro  
 290 295 300  
 Phe Ser Gly Gly Pro Val Ser Phe Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Phe  
 305 310 315 320  
 Gly Thr Pro Gly Tyr Gly Ser Pro His Phe Thr Ala Leu Tyr Ser Ser  
 325 330 335  
 Val Pro Phe Pro Glu Gly Glu Ala Phe Pro Pro Val Ser Val Thr Thr  
 340 345 350  
 Leu Gly Ser Pro Met His Ser Asn  
 355 360

<210> 39  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 39  
 agggtctgct actgagatgc tctg

24

<210> 40  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 40  
aggcaggtct tcagaggaag ggcg

24

<210> 41  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 41  
cgggctgttag acctgtctgc attctg

26

<210> 42  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 42  
ggtccttctg tctcatcctc gagagt

26

<210> 43  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 43  
accaaggtca ccgcattcaa

20

<210> 44  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 44  
cttcaccaag attccgatg

20

<210> 45  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 45  
gaatggtgga ctagctttg

20

<210> 46  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 46  
tgccatgaat gtcgatatgc ag

22

<210> 47  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 47  
ccgcggaaag tcaagagatt gggtgg

26

<210> 48  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 48  
gcggccgcct ttacgggtca cgagggtcac

30

<210> 49  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 49  
tgtggccagt gtttggttct ggccgg

26

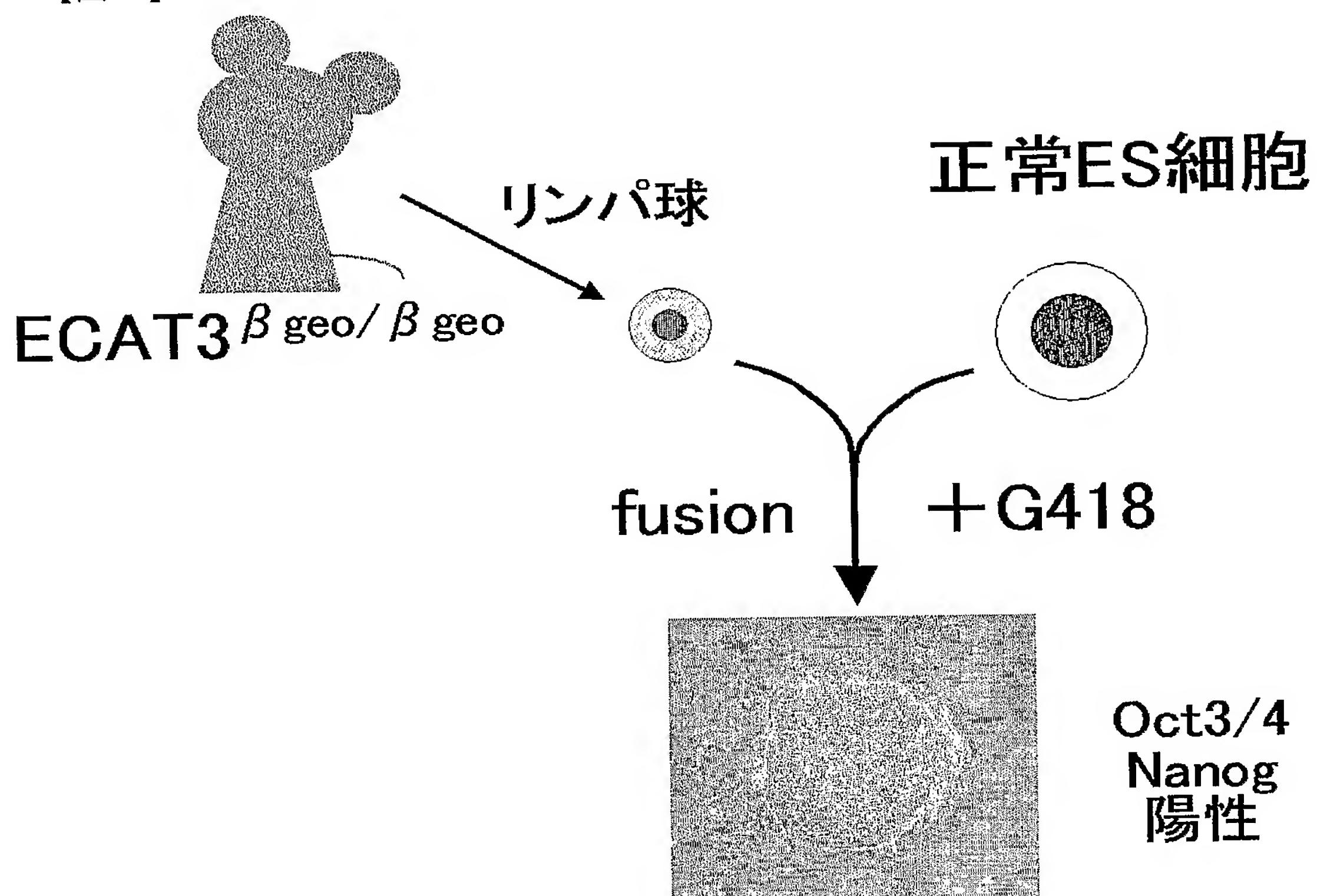
<210> 50  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence:primer

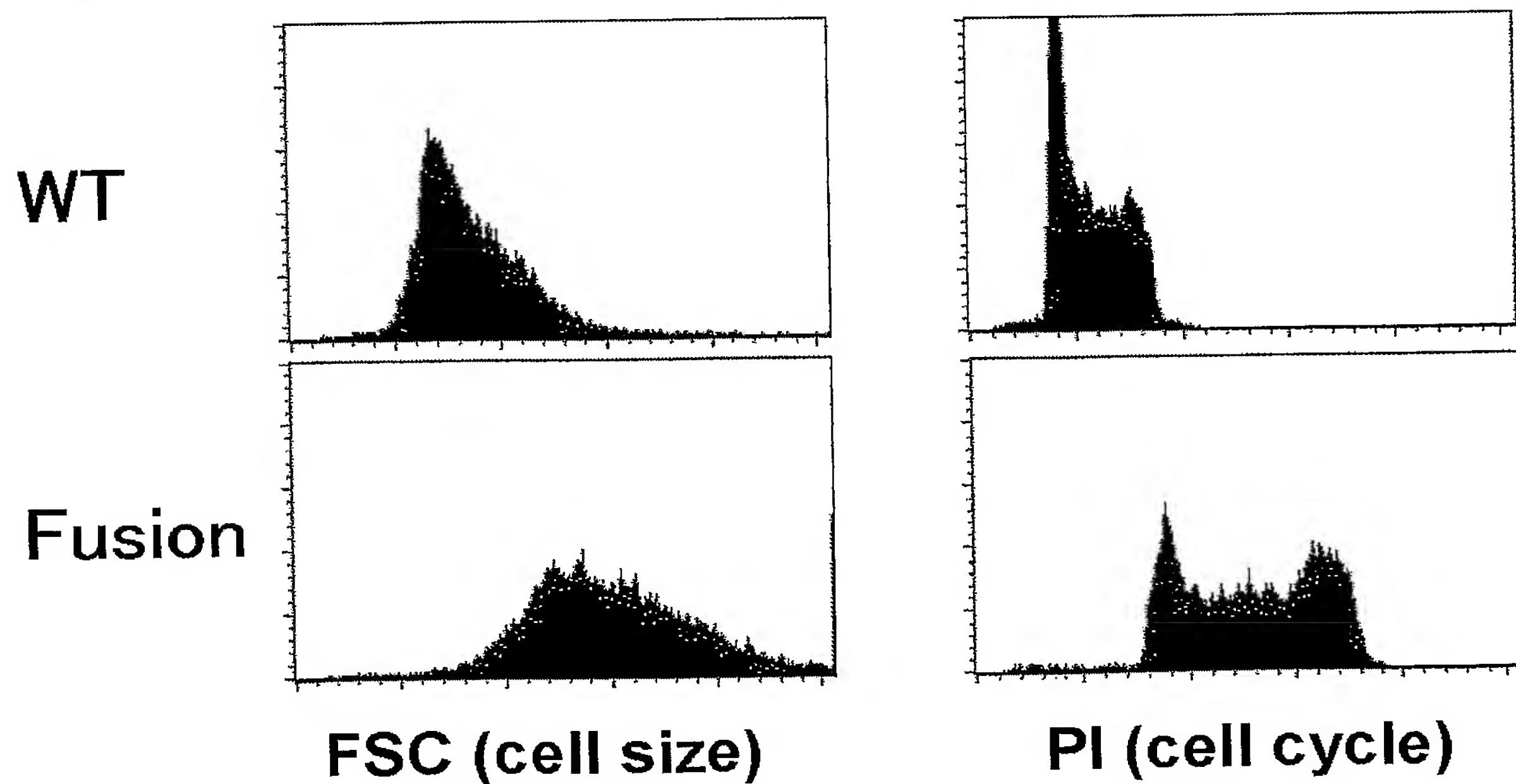
<400> 50  
ctcgaggact cgccattcta gccaaag

26

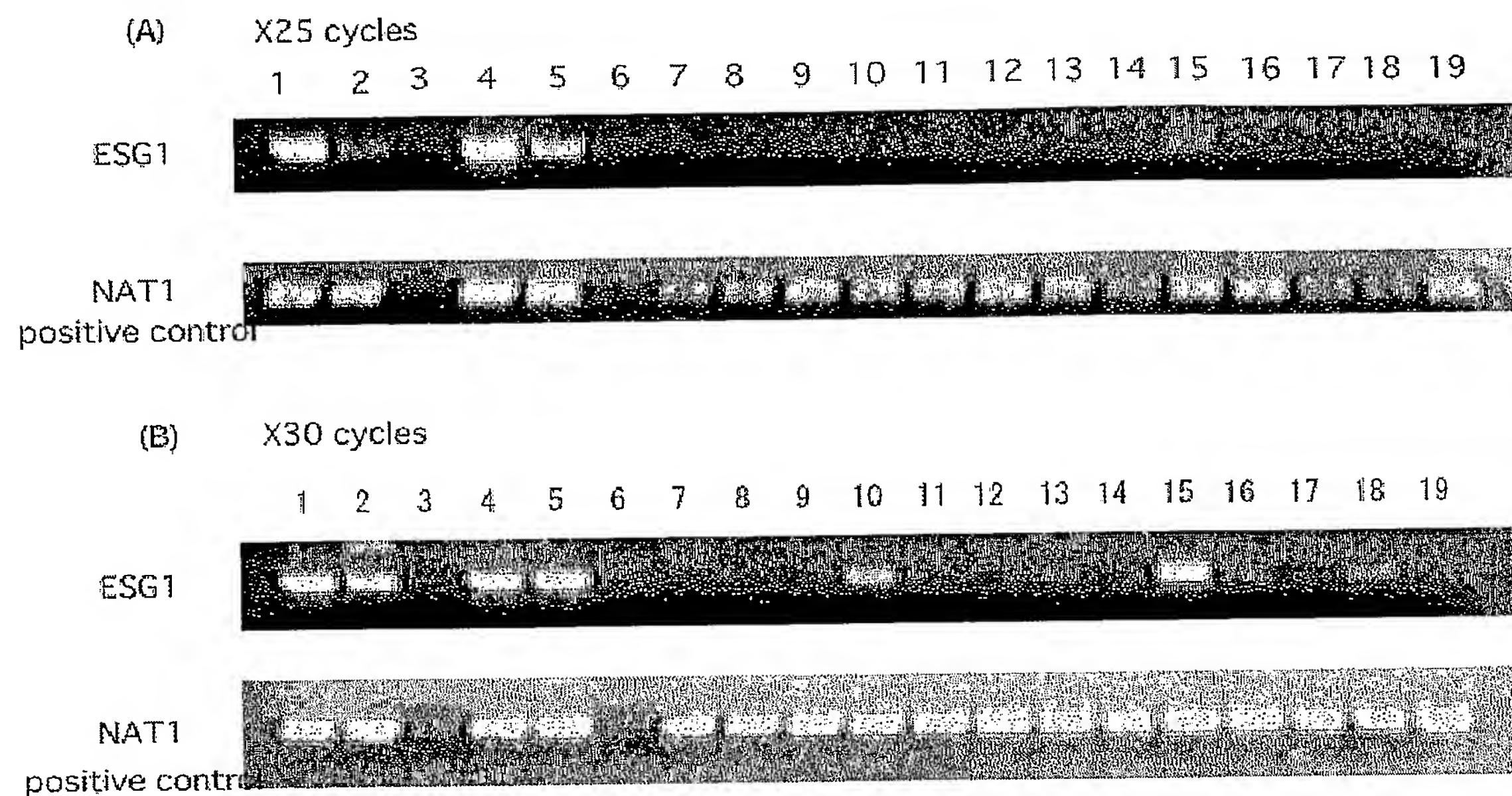
【書類名】図面  
【図1】



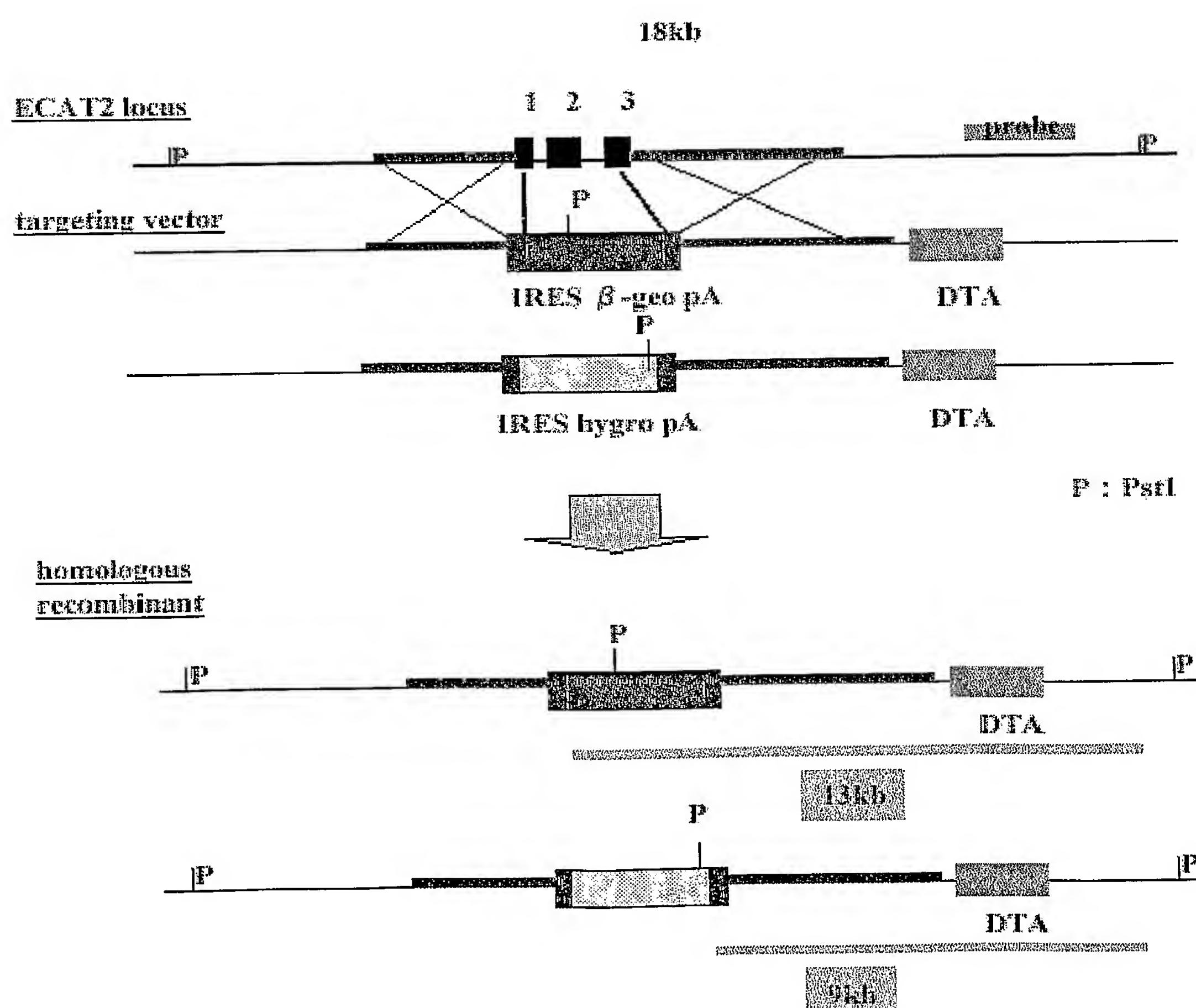
【図2】



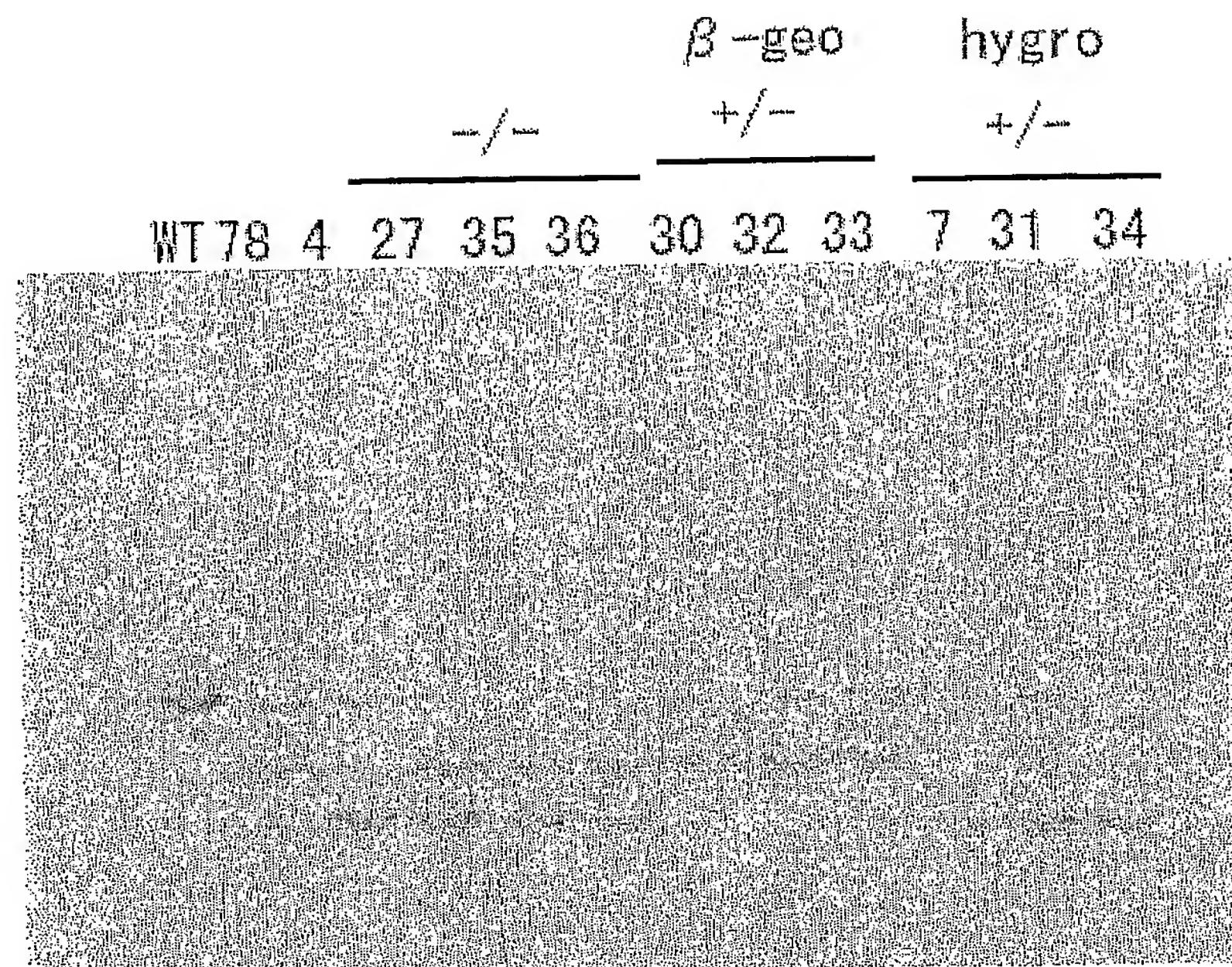
【図3】



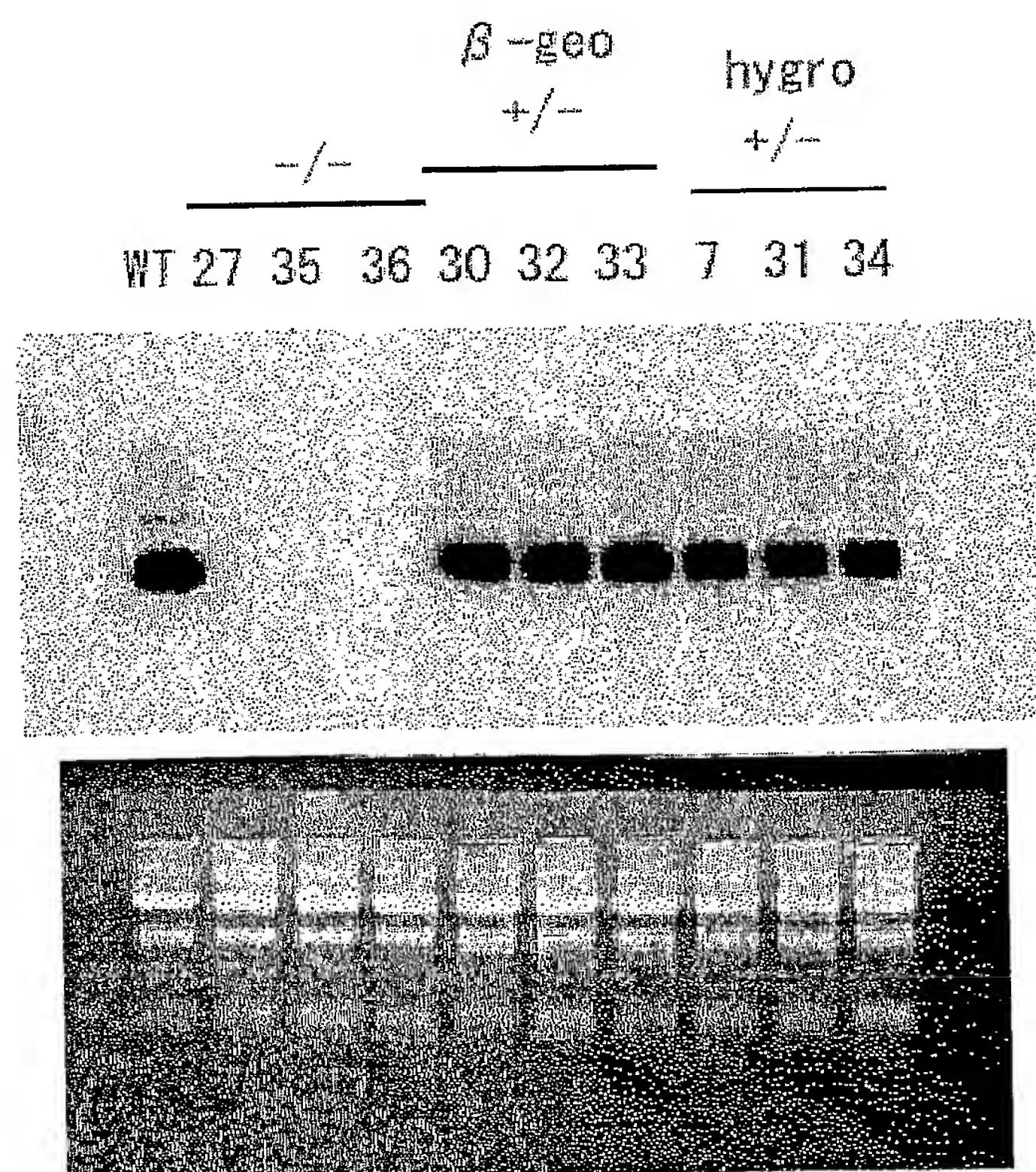
【図4】



【図5】



【図6】



【書類名】要約書

【要約】

【課題】 体細胞核初期化物質の新規なスクリーニング方法を提供する。

【解決手段】 (a) E C A T 遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマークー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と、被験物質とを接触させる工程、および (b) 前記 (a) の工程の後、マークー遺伝子発現細胞の出現の有無を調べ、該細胞を出現させた被験物質を体細胞の核初期化候補物質として選択する工程を含む、体細胞の核初期化物質のスクリーニング方法等。

【選択図】 なし

**認定・付力印青幸良**

特許出願の番号	特願2004-042337
受付番号	50400266043
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成16年 2月20日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

【提出日】

平成16年 2月19日

特願 2004-042337

出願人履歴情報

識別番号 [501219312]

1. 変更年月日 2001年 5月31日

[変更理由] 新規登録

住所 大阪府大阪市天王寺区堂ヶ芝2-9-7-1401  
氏名 山中 伸弥

特願 2004-042337

出願人履歴情報

識別番号

[000183370]

1. 変更年月日

1990年 8月 9日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府大阪市中央区道修町2丁目2番8号

氏 名

住友製薬株式会社